

SÉRIE A. N° 164.

N° D'ORDRE : 486.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

Joseph SZYMANEK

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU *Phytophthora infestans*

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 9 Mars 1928, devant la Commission d'examen.

Président : M. DANGEARD, Membre de l'Institut.

Examineurs : { MM. PORTIER
DEREIMS

SCEAUX

MARCEL BRY

DESSINATEUR - IMPRIMEUR

1928

SÉRIE A. N° 164

N° D'ORDRE : 186.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

Joseph SZYMANEK

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU *Phytophthora infestans*

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 9 Mars 1928, devant la Commission d'examen.

Président : M. DANGEARD, *Membre de l'Institut.*

Examineurs : { MM. PORTIER
DEREIMS

SCEAUX

MARCEL BRY

DESSINATEUR - IMPRIMEUR

1928



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires.... P. APPEL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires. }
P. PUISEUX.
V. BOUSSINESQ.
A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
G. SAGNAC.

ÉMILE PICARD..... Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KOENIGS..... Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT..... Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET..... Electrotechnique générale.
F. WALLERANT..... Minéralogie.
H. ANDOYER..... Astronomie.
P. PAINLEVÉ..... Mécanique analytique et mécan. céleste.
Gabriel BERTRAND... Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE..... Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ..... Chimie appliquée.
G. URBAIN..... Chimie minérale.
Émile BOREL..... Calcul des probabilités et Phys. mathém.
L. MARCHIS..... Aviation.
Jean PERRIN..... Chimie physique.
Rémy PERRIER..... Zoologie (Enseignement P. C. N.).
H. ABRAHAM..... Physique.
M. MOLLIARD..... Physiologie végétale.
E. CARTAN..... Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE..... Physiologie générale.
E. VESSIOT..... Théorie des groupes et calcul des variat.
A. COTTON..... Physique générale.
J. DRACH..... Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY..... Physique.
Charles PÉREZ..... Zoologie.
Léon BERTRAND..... Géologie appliquée et géologie régionale.
R. LESPIEAU..... Théories chimiques.
E. RABAUD..... Biologie expérimentale.
P. PORTIER..... Physiologie comparée.
É. BLAISE..... Chimie organique.
P.-A. DANGEARD... Botanique.
P. MONTEL..... Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT.... Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ..... Biologie maritime.
G. JULIA..... Mathématiques générales.
A. JOB..... Chimie générale.
A. MAILHE..... Étude des combustibles.
L. LUTAUD..... Géographie physique.
Eugène BLOCH..... Physique théorique et physique céleste.
H. VILLAT..... Mécanique des fluides et applications.
N..... Géologie.

E. HÉROUARD..... Zoologie.
E. PÉCHARD..... Chimie (Enseig. P.C.N.).
V. AUGER..... Chimie analytique.
M. GUICHARD..... Chimie minérale.
A. GUILLET..... Physique.
C. MAUGIN..... Minéralogie.
L. BLARINGHEM... Botanique.
A. MICHEL-LÉVY... Pétrographie.
A. DEREIMS..... Géologie.
R. DONGIER..... Physique du globe.
A. DENJOY..... Calcul différé et intégr.
H. BÉNARD..... Physique (P.C.N.).

E. DARMOIS..... Physique.
G. BRUHAT..... Physique.
H. MOUTON..... Chimie physique.
L. JOLEAUD..... Paléontologie.
M. JAVILLIER..... Chimie biologique.
A. DUFOUR..... Physique (P.C.N.).
F. PICARD..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
ROBERT-LÉVY..... Zoologie.
L. DUNOYER..... Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND... Botanique (P.C.N.).
A. DEBIERNE..... Radioactivité.

Secrétaire..... Daniel TOMBECK.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553825_0012

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DU *PHYTOPHTHORA INFESTANS*
PARASITE DE LA POMME DE TERRE

par JOSEPH SZYMANEK

Sommaire

- I. HISTORIQUE, p. 213.
- II. RECHERCHE DU PARASITE DANS LES DIFFÉRENTS ORGANES DE LA POMME DE TERRE : FEUILLE, TIGE, FRUIT ET TUBERCULE.
 - a) Technique : coupes à la main, p. 217 ; coloration, p. 218 ; coupes en séries, fixation, p. 219 ; coloration, p. 221.
 - b) Etude du parasite dans les tissus de l'hôte et étude des organes parasités : examen de la feuille, p. 222 ; examen de la tige, p. 227 ; examen du fruit, p. 228 ; examen du tubercule, p. 228 ; rôle des bactéries, p. 234.
- III. BIOLOGIE DU PARASITE : CULTURES PURES ET INFLUENCE DE DIFFÉRENTS MILIEUX SUR SON DÉVELOPPEMENT : historique des cultures pures, p. 237 ; milieux utilisés, p. 237 ; observations en nature, p. 249 ; germination, p. 255.
- IV. RAPPORTS DU PARASITE AVEC QUELQUES VARIÉTÉS DE POMMES DE TERRE AU POINT DE VUE DE LA RÉSISTANCE : historique, p. 257 ; partie expérimentale, p. 259 ; infection directe, p. 261 ; infection indirecte, p. 264 ; recherche des facteurs de la résistance, p. 266.
- V. RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES, p. 270.

Historique

C'est du début du 19^e siècle que datent les premières observations sur la maladie, que le *Phytophthora infestans* détermine chez la Pomme de terre, et que l'on connaît dans la langue française sous le nom de « mildiou » (1).

(1) Le terme « mildiou » est emprunté à l'anglais et dérive du mot « mildew » qui, à l'origine désignait les maladies se manifestant par un feutrage blanc sur les organes aériens de la plante. Actuellement, les Phytopathologistes anglais se servent de ce terme pour les maladies provoquées par les Erysiphacées « powdery mildew » et par les Péronosporacées « downy mildew ».

Ce champignon, qui existe particulièrement dans la région montagneuse des Andes sur la Pomme de terre sauvage, fit son apparition en Europe environ deux siècles après l'introduction de la Pomme de terre (1).

Il fut signalé sous différents noms.

VON MARTIUS [117] (2), décrivant, en 1842, la maladie de la « Stock-und Knollenfäule » de la Pomme de terre, la désigne par « *Gangrena tuborum Solani* » ; elle apparaît dans toute l'Allemagne, en Belgique, en Hollande, en Angleterre et au Danemark.

En Belgique, CH. MORREN préconisait un traitement des champs envahis, par un mélange de 23 parties de chaux, de 3 parties de sel de cuisine, de 1 partie de sulfate de cuivre et de 125 parties d'eau.

J.-F.-C. MONTAGNE [127] parle de ce champignon dans le « Bulletin de la Société Philomatique de Paris », de 1845, sous le nom de *Botrytis infestans*. Dans la même année LEBERT le nomme *Botrytis devastatrix*, et DESMAZIÈRES *Botrytis fallax*; plus tard, HARTIG le signale comme *Botrytis Solani*. UNGER, en 1847, le classe parmi les Péronosporées sous le nom de *Peronospora trifurcata*. Par GASPARY en 1852, il fut appelé d'abord *Peronospora Fintelmanni* et plus tard *Peronospora devastatrix*. En 1857, J. SPEERSCHNEIDER [190] cite dans la « Flora » ses expériences d'infection avec ce champignon.

Enfin, DE BARY [3], tout en lui conservant sa place parmi les Péronosporées, change d'abord son nom d'espèce en *Peronospora infestans*; plus tard en 1876, à la suite d'une étude morphologique plus précise, notamment à cause de la forme des conidiophores et du mode de production des conidies, il crée le genre *Phytophthora*, espèce *infestans* (MONT.). Ainsi, c'est à cet auteur que nous devons nos premières connaissances de la morphologie du parasite, de la production des conidies, de sa reproduction par des zoospores et de son mode d'infection. C'est encore DE BARY, qui signale le premier que le *Ph. infestans* envahit aussi d'autres plantes, génériquement éloignées.

L. HALLIER [2] étudiant aussi le parasite, critique fortement la méthode d'investigation de DE BARY et lui conteste la priorité de beaucoup de ses observations; il change en même temps le nom d'espèce du parasite en *Ph. Solani*. Il dit avoir observé dans les cultures du champignon sur jus

(1) Quelques auteurs supposent que les symptômes de cette maladie avaient déjà été remarqués par le Jésuite José ACOSTA, au cours de son voyage dans les « Indes » vers 1565. « *Histoire naturelle et morale des Indes* » ne contiennent aucune mention à ce sujet.

(2) Le chiffre entre parenthèse, après le nom de l'auteur, indique le numéro de l'index bibliographique.

de cerises l'apparition de bactéries, qui auraient pris naissance à partir du protoplasme du parasite, les plastides se transformeraient, eux-mêmes, en bactéries de forme *coccus* ou *bacillus*.

En 1865, W.G. SMITH [184, 185, 186] annonce l'existence de spores de repos dans les tissus envahis par le parasite. Mais DE BARY entreprenant aussitôt une vérification de cette assertion, attribue ces spores à un *Pythium*; M. CORNU [34], à son tour, étudie cette question et ses conclusions concordent avec celles de DE BARY.

E. PRILLIEUX [157] relate quelques années plus tard ses expériences avec des produits chimiques destructeurs du parasite.

En 1887, H.M. WARD [204] publie une note sur la biologie du parasite.

J. SMORAWSKI [187] en 1890, affirme, à son tour, dans sa dissertation, l'existence des œufs et des anthéridies qu'il a trouvés sur les tubercules parasités par le *Ph. infestans*.

En 1887, J.-L. JENSEN [81] effectue des infections artificielles des tubercules de pomme de terre, problème qui préoccupa déjà DE BARY. L'auteur étudie l'effet de la nature du sol sur les spores, il effectue de nombreuses expériences sur l'influence de la température et des conditions atmosphériques sur l'évolution du parasite, et il conclue qu'une désinfection par une température de 42° enrayerait la maladie.

Par les travaux de L. MANGIN [11] publiés en 1895, sur la constitution chimique du parasite on apprend que la pénétration du mycelium par les suçoirs à l'intérieur de la cellule est un fait général, tandis que DE BARY, au contraire, estimait que c'était là un fait rare.

G. DELACROIX [49, 50] partage l'opinion de L. MANGIN, mais les figures que l'on trouve dans ses travaux permettent de croire qu'il devait considérer que le mycélium, lui-même, pénètre aussi dans la cellule du tissu du tubercule.

T.L. WATSON [205] entreprend en 1895 une étude chimique des diverses variétés de pommes de terre, et essaye d'élucider ainsi la différence de résistance au parasite de ces variétés.

Une mise au point des travaux effectués jusqu'alors sur le *Phytophthora infestans* fut faite par E. ROZE [170, 171] en 1898, dans son traité : « Histoire de la Pomme de terre » complété par ses observations et expériences personnelles.

La culture du parasite fut l'objet de la part de MATRUCHOT et MOLLARD [118] d'une étude étendue sur des milieux liquides et solides très variés. Ces auteurs déduisent de leurs observations que le champignon se développe aussi bien sur les milieux morts que sur les milieux vivants; en outre,

ils estiment que la décomposition des tubercules infectés par le *Phytophthora infestans* est due plutôt aux bactéries qu'au parasite lui-même, qui ouvrirait la voie à ces micro-organismes secondaires.

Nos connaissances sur le *Phytophthora infestans* se sont particulièrement accrues au cours de ces vingt-cinq dernières années. L'étude précédente du parasite en cultures pures est la base de ces recherches.

L.R. JONES [82, 83, 85, 86, 87, 88], G.H. PETHYBRIDGE [142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150], P.P. CLINTON [29, 30, 31], P.H. MURPHY [129, 130, 131, 132, 133], W.A. ORTON [140, 141], B.T. LUTMANN [105], M^{lle} H.L. DE BRUJIN [16, 17, 18, 19], M^{lle} D. LOHNIS [103], L.H. LEONIAN [100, 101] et d'autres auteurs obtiennent dans leurs cultures les formes très diverses du parasite et, parmi celles-ci, des spores de repos. L'étude méthodique de la biologie du parasite révèle qu'il résiste à des températures très basses. Les auteurs ont établi une échelle de résistance de différentes variétés de Pomme de terre à l'attaque du *Phytophthora infestans*, et ont étudié ses relations spécifiques avec d'autres Phytophthorées.

Nos recherches furent effectuées en partie au LABORATOIRE DE BOTANIQUE DE LA SORBONNE, sous la haute direction de M. le Professeur DANGEARD, Membre de l'Institut, que nous prions d'agréer l'expression de nos respectueux remerciements pour le souci inlassable qu'il a de ses élèves.

La partie expérimentale fut effectuée à la STATION CENTRALE DE PATHOLOGIE VÉGÉTALE DE PARIS. Qu'il nous soit permis d'exprimer ici notre profonde gratitude et reconnaissance à M. FOEX, Directeur de cette Station, pour l'accueil qu'il nous a fait dans son Laboratoire, où nous avons profité pendant plus de deux ans de ses judicieux conseils, et de nous avoir accordé toutes les facilités nécessaires à nos recherches, ainsi qu'à M. ARNAUD, Directeur-Adjoint et M. DUFRENOY, Chef de Travaux, pour leur constant encouragement et leurs conseils.

Nous exprimons notre reconnaissant hommage à tous ceux, qui nous ont permis de mener notre étude à bonne fin.

*
* *

L'ensemble de notre travail se subdivise comme suit :

- A) Recherche du parasite dans les différents organes de la Pomme de terre : feuille, tige, fruit et tubercule;
 - a) technique,
 - b) étude du parasite dans les tissus de l'hôte et l'étude des organes parasités.

- B) Biologie du parasite : culture pure et influence des différents milieux sur son développement.
- C) Rapports du parasite avec quelques variétés de Pommes de terre, au point de vue de leur résistance.

**Recherche du parasite dans les différents organes
de la Pomme de terre :
Feuille, tige, fruit et tubercule**

a) Technique

Le *Phytophthora infestans* attaque aussi bien les fruits, les tiges, les feuilles que les tubercules de la Pomme de terre.

Le point de départ de notre étude fut un tubercule malade. La preuve de la présence du parasite dans un tel tubercule est donnée par l'examen macroscopique et surtout microscopique.

Macroscopiquement, il présente des taches brunâtres, au niveau desquelles le périoderme est ridé et où le tissu cède sous la pression du doigt. Sur une section du tubercule on trouve une zone brunâtre et irrégulière, accompagnée de taches de même aspect.

Microscopiquement, on constate dans les tissus la présence d'un mycélium irrégulier et non cloisonné.

Une portion de ce tubercule placée en chambre humide, à la température de 18° C. pendant environ 30 heures se couvre d'un feutrage blanc-grisâtre constitué par les hyphes aériens, les conidiophores et les conidies, caractéristiques du *Phytophthora infestans*.

COUPES A LA MAIN. — Pour la recherche du mycélium dans le tubercule, nous nous sommes servi presque exclusivement de la méthode des coupes à la main. Les coupes de tubercule faites au microtome sont difficilement utilisables, les grains d'amidon très abondants déterminent, par leur résistance au couteau, une dégradation des coupes.

Nous avons traité des coupes effectuées à la limite de la zone brune par différents colorants. Le bleu coton C4B en solution dans l'acide lactique est un colorant commode pour rechercher le mycélium dans les parties, qui ne sont pas trop altérées; autrement le mycélium se trouve vidé de son contenu et ne prend que très faiblement la coloration. Le bleu coton se fixe particu-

lièrement sur le protoplasme, mais aussi bien sur celui du parasite que sur celui de l'hôte; de toute façon, lorsqu'il y a des suçoirs dans une préparation, ils apparaissent colorés plus intensément que le reste du mycélium. Cette différence de colorabilité s'accroît lorsqu'on colore des coupes préalablement traitées par l'hypochlorite de soude, qui dissout le protoplasma, puis, après lavage, par une solution alcoolique de potasse qui détruit les grains d'amidon très gênants pour l'observation. Avant de passer les coupes dans le colorant, elles doivent être soigneusement lavées à l'alcool à 90°, puis à l'eau distillée. Sur les coupes ainsi traitées, la différence d'intensité entre la coloration du mycélium et celle des suçoirs apparaît nettement.

COLORATIONS. — Nous avons essayé de colorer les coupes faites à la main par d'autres colorants bleus appartenant à la série des triphénylrosanilines sulfonées, de même que par les colorants tétrazoïques, comme la deltapurpurine, la rosazurine, la benzoazurine, le rouge Congo et le Soudan III. Ces colorants ont été employés séparément ou en mélange. Les colorations ne nous ont pas révélé, dans notre cas, des particularités notables.

Nous avons également essayé la méthode de coloration de L. MANGIN [110] basée sur la transformation préalable de la constitution chimique de la membrane cellulaire de l'hôte en hydrocellulose, ce qui permet, étant donné la constitution callosique du mycélium, une double coloration. Le mélange de benzoazurine et de rosazurine nous a donné une coloration de la membrane cellulaire en bleu-violet et du mycélium en rose. Ces méthodes sont d'un emploi très délicat, et nous n'avons obtenu de résultats caractéristiques que dans un cas et seulement quelques jours après le montage de la préparation dans la gélatine glycinée. Quant à la deltapurpurine employée en solution aqueuse, elle donne une coloration monochrome avec une teinte légèrement plus foncée du mycélium et surtout des suçoirs, mais elle est instable car les coupes doivent être examinées dans le colorant lui-même. Nous avons obvié à cet inconvénient par un traitement supplémentaire à l'acide picrique en solution aqueuse ou alcoolique, appliqué, soit avant, soit après la coloration de la coupe à la deltapurpurine. Les préparations ainsi colorées, montées dans la gélatine glycinée, ne subissent plus aucun trouble.

La thionine, colorant métachromatique du groupe des quinones-imides, de la série sulfurée des thiazines, donne de bons résultats. La coloration passe du bleu-violet au rose; elle colore les nucléoles en violet, le noyau et les membranes cellulaires en rose-violet variant selon la structure anatomique et l'état du tissu; les grains d'amidon restent généralement incolores ou légèrement gris; le mycélium prend souvent une coloration un peu différente des tissus avoisinants, également en relation avec l'état d'altération du tubercule.

Mode de préparation de la thionine d'après la formule de NICOLLE : dissoudre à saturation de la thionine dans l'eau distillée, précipiter par la soude caustique à 10 %, laver le précipité jusqu'à la disparition de la réaction alcaline; redissoudre le précipité dans l'eau phéniquée à 2 %. Cette solution peut servir après 24 heures, elle se bonifie en vieillissant.

La coloration des coupes à la main que nous avons utilisée de préférence, est celle de GUÉGUEN :

mélanger : 100 parties d'acide lactique,
avec : 0,1 Soudan III;
dissoudre à chaud, et ajouter :
0,1 partie de bleu coton C4B
et 30 gouttes de teinture d'iode.

Ce mélange se conserve mieux à l'obscurité.

Ce colorant fut employé sur des coupes non passées à l'hypochlorite et la potasse alcoolique. Si la coloration des lipides en rouge-brun par le Soudan III se conserve même pendant plusieurs mois, la coloration bleue due au bleu coton s'atténue à la longue. Les grains d'amidon colorés par l'iode conservent leur teinte, pourvu que la préparation ne soit pas chauffée.

Le réactif de GUÉGUEN n'est pas durable, car le Soudan III ne tarde pas à se précipiter sous forme d'aiguilles; il convient de se servir d'une solution fraîche.

Le bleu d'indophénol naissant a été employé comparativement sur des coupes fraîches comme réactif des graisses. On le prépare de deux solutions ne devant être mélangées qu'au moment de l'emploi :

solution aqueuse A :

chlorhydrate de diméthylparaphénylendiamine à..... 0,5 %.

solution aqueuse B :

solution de potasse à 33 %..... 0,5 gr.

α -naphthol ou thymol..... 0,5 »

eau distillée 100, »

Au moment de l'emploi on mélange : 1 cc. de solution A
avec 1 cc. de solution B
dans 20 cc. d'eau distillée.

COUPES EN SERIES. — A l'examen des feuilles, des tiges et des fruits qui se prêtent mieux que le tubercule à des coupes au microtome nous avons appliqué les méthodes des fixations cytoplasmiques.

Les fixateurs employés sont :

A) fixateur de BOUIN-DUBOSCQ, ou picroformol acétique :

solution A : alcool à 80°.....	150 cc.
acide picrique.....	1 gr.
solution B : formol à 40°.....	60 gr.
acide acétique	15 gr.

le mélange des solutions A et B en proportion de 2 : 1 se fait au moment de l'emploi. Le picroformol acétique est plutôt un fixateur nucléaire. Les petits morceaux de tissu sont fixés durant environ 30 heures, ensuite lavés à l'alcool à 60°, renouvelé jusqu'à la disparition de la teinte jaune due à l'acide picrique, et puis ils suivent la voie de déshydratation progressive soit par l'alcool isobutylique miscible à l'eau et à la paraffine, soit à l'alcool éthylique allant jusqu'à 100° avant le passage au xylol. L'emploi de l'alcool isobutylique a l'avantage que les tissus durcissent moins que dans l'alcool éthylique et le xylol. Nous l'avons employé en bains successifs de la manière suivante :

a) mélangé par moitié à l'alcool éthylique à 80° additionné de 2 % d'eau;

b) mélangé par moitié à l'alcool éthylique à 80° additionné de 0,2 % d'eau;

c) mélangé par moitié à l'alcool éthylique à 80°;

d) mélangé par moitié à l'alcool éthylique à 80° additionné de 50 % d'alcool isobutylique pur;

e) alcool isobutylique pur;

f) alcool isobutylique pur additionné de 50 % de paraffine;

g) paraffine pure.

Le matériel séjournait environ 6 heures, dans chacun de ces bains.

B) fixateur de REGAUD :

4 parties de bichromate de potasse à 3 %

1 partie de formol neutre à 40°.

Ce mélange s'effectue aussi au moment de l'emploi. La fixation dure 4 jours, elle était suivie d'une postchromisation au bichromate de potasse à 3 % pendant une dizaine de jours, le liquide doit être renouvelé lorsqu'il se trouble. On lave à l'eau courante pendant 24 heures environ, puis on procède à la déshydratation à partir de l'alcool à 50°.

C) fixateur de FLEMMING employé à titre de comparaison, se compose de :

acide osmique à 1%.....	10 parties.
— chromique à 1%.....	25 —
— acétique crist.....	10 —
eau distillée	55 —

La fixation dure environ 3 jours, après quoi on lave et l'on déshydrate comme précédemment.

Les fixateurs de BOUIN-DUBOSCQ, et celui de REGAUD nous ont donné des résultats des plus satisfaisants.

COLORATIONS. — Pour colorer des coupes faites au microtome, nous avons employé les méthodes suivantes :

a) coloration à l'hématoxyline ferrique :

eau distillée.....	80 cc.
alcool à 95°.....	10 —
glycérine neutre.....	10 —
hématoxyline	1 —

précédée d'un mordantage à l'alun de fer ammoniacal à 3 % et suivie d'une différenciation avec cette solution à 1 %;

b) coloration à la fuschine acide suivie d'une différenciation au vert lumière;

c) coloration d'ALTMANN-KULL : les coupes sont colorées à chaud pendant 5 minutes à la fuchsine acide dissoute dans de l'eau anilinée, jusqu'à l'émission de vapeurs; elles sont ensuite lavées à l'eau, colorées pendant quelques secondes à la toluidine aqueuse à 0,5 %, lavées de nouveau sommairement à l'eau et différenciées à l'aurantia en solution alcoolique à 0,5 % jusqu'à disparition des traînées de colorants.

Cette dernière méthode de coloration se prête très bien à la recherche du mycélium qui se trouve coloré, dans la plupart des cas, en bleu allant jusqu'au violet, selon l'état des tissus. L'amidon prend une coloration variant du bleu au violet, parfois au bleu-vert, les chloroplastes se colorent en rose, les cytosomes en bleu-brun. Ce procédé est très délicat car la bonne réussite dépend de la durée d'action de chacun des colorants qui est très courte, et, de ce fait, difficile à surveiller, variant avec l'épaisseur de la coupe et l'état d'altération des tissus.

b) *Etude du parasite dans les tissus de l'hôte* *et étude des organes parasités*

L'évolution du *Phytophthora infestans* dans la feuille et dans le tubercule a été étudiée par différents auteurs.

C'est surtout aux recherches de L. MANGIN [111] que l'on doit des connaissances approfondies de la structure morphologique du mycélium dans la feuille.

Dans les travaux antérieurs, comme ceux de H.M. WARD [204,], nous trouvons des figures illustrant la pénétration du parasite dans le tissu foliaire par irruption dans l'épiderme.

Sur les figures de L. MANGIN, nous voyons que le mycélium dans les tissus foliaires est pourvu de suçoirs fins, effilés à leur extrémité et étranglés à leur base; le mycélium cheminant entre les cellules prend les formes que les lacunes lui imposent.

G. DELACROIX [50, fig. 1 et 2] dans son étude du tubercule de pomme de terre parasité par le *Ph. infestans* représente les suçoirs sous des formes diverses et certaines ramifications du mycélium, qu'il assimile aux suçoirs comme si elles se trouvaient à l'intérieur de la cellule.

Dans un travail tout récent de M^{lle} M. B. LOHNIS [103] sur ce parasite, nous trouvons bien quelques figures de coupes de tubercule infecté, mais le côté morphologique du mycélium ne nous paraît guère avoir été envisagé.

Il semblerait que cette question fût considérée comme définitivement élucidée.

Nous allons essayer d'y apporter la contribution de quelques observations faites au cours de nos recherches.

EXAMEN DE LA FEUILLE. — Une feuille atteinte par le mildiou est macroscopiquement reconnaissable à la face supérieure par des taches brunes, desséchées, et entourées par une zone vert-pâle, ou même jaunâtre. La face inférieure est caractérisée dans la plupart des cas par une zone blanc-gris, constituée par un feutrage que forment les organes aériens du parasite.

Si les feuilles n'ont pas une position horizontale, ces caractères apparaissent indifféremment sur n'importe quelle face. La localisation de ce feutrage dépend beaucoup, nous semble-t-il, de la position de la feuille, qui par cela, peut donner un abri favorable à l'évolution du parasite.

Ainsi sur les plants de pommes de terre à feuillage riche, et dont les feuilles sont presque horizontalement étalées, le parasite se développe presque exclusivement sur la face inférieure; sur la face supérieure nous ne constatons que les taches brunies, nécrosées, et entourées d'une zone jaunâtre. Au contraire, sur les plantes moins abondantes en feuillage et dont les feuilles sont redressées, le parasite produit ses organes conidifères aussi à la face supérieure.

Dans nos essais d'infection des feuilles, le parasite se développait presque uniquement à la face supérieure et sur le bord; il est à noter que les feuilles étaient petites et redressées; l'infection avait été effectuée à la face supérieure. La partie de la plante sur laquelle on avait expérimenté, avait été abritée par une cloche.

La structure anatomique du mésophylle, et surtout du tissu palissadique, le nombre de stomates sur chacune des faces de la feuille, étant en relation étroite avec la position de celle-ci doivent contribuer beaucoup à la localisation du parasite.

Des coupes faites à la main dans une feuille altérée ne présentent pas beaucoup d'intérêt. Il est difficile de les obtenir de faible épaisseur d'où une coloration exagérée obscurcissant en grande partie le mycélium et surtout les suçoirs.



Fig. 1. — Mycélium muni de suçoirs dans le tissu palissadique de la feuille.

Dans ces conditions, nous avons préféré la méthode des coupes au microtome.

Nous constatons que le parasite chemine dans tout le mésophylle. Le tissu palissadique enserré par le mycélium se trouve dissocié. Le tissu lacuneux ne paraît pas subir une dissociation aussi profonde; le mycélium se développe librement dans les lacunes sans se modifier spécialement du point de vue morphologique, sous leur influence (fig. 1). Le mycélium se trouve quelquefois immédiatement sous l'épiderme supérieur, qui est détaché du mésophylle palissadique, surtout au voisinage des chambres sous-stomatiques où il s'accumule abondamment, obturant les stomates par des hyphes fructifères ou végétatifs.

Le mycélium lui-même prend les formes les plus diverses; il est très ramifié, lobé et pourvu de nombreux suçoirs.

La forme des suçoirs est très variable : claviformes, cunéiformes et même filiformes (fig. 2 A, B). Ils ne sont pas notablement étranglés à leur base, mais plutôt rétrécis lorsqu'ils sont en forme de massue.



Fig. 2. — Coupe dans la feuille : le mycélium se trouve dans le tissu lacuneux, muni de suçoirs filiformes, la membrane cellulaire se trouve invaginée.

Si nous comparons l'épaisseur de la membrane du mycélium avec celle des suçoirs, nous constatons que l'épaisseur de ces derniers est visiblement plus forte.

La membrane cellulaire présente autour de la base des suçoirs un épais-

sissement qu'on pourrait appeler ourlet cicatriciel. Cet épaissement se colore plus intensément que le reste de la membrane cellulaire.

Les suçoirs nous semblent pénétrer dans la cellule par les orifices de la paroi, servant aux communications protoplasmiques, reliant physiologiquement les cellules entre elles.

On peut admettre aussi une irruption de ces suçoirs, précédée d'une invagination dans la membrane cellulaire (fig. 2 A).

Les noyaux sont très nombreux dans le mycélium et ils nous semblent généralement faire défaut dans les suçoirs.

Comment se traduit l'action destructrice du parasite dans une feuille de pomme de terre?

Dans une cellule de feuille saine (Pl. I, 1) nous remarquons une multitude de chloroplastes, qui sont polygonaux, vue de face, et fusiformes ou elliptiques latéralement. Dans l'ensemble, chacun d'eux est un corps polygonal ou circulaire et biconvexe.

Un tel chloroplaste présente, en lui-même, à l'état normal, une structure quasi-homogène, très chromophile; il porte plusieurs corps amylacés, colorables à l'iode qui, de face, sont d'une forme discoïde et, latéralement, fusiformes nous donnant, eux aussi, l'idée d'un corps lenticulaire biconvexe.

Le noyau de forme ronde, ovale ou allongée, présente des granulations de dimensions égales et très chromophiles; son nucléole, relativement petit, se colore uniformément.

Comme nous l'avons déjà dit, le tissu envahi par le parasite ne tarde pas à se dessécher et à brunir.

Le premier effet de la présence du mycélium observé au microscope est une dissociation du tissu, une rupture de l'unité physiologique entre les cellules, suivie de l'altération cytoplasmique de ces dernières.

Cette altération se manifeste par une déformation des chloroplastes, qui, perdant leur forme polygonale, s'arrondissent d'abord, leur structure quasi-homogène se modifie ensuite par l'apparition de granules très chromophiles de grosseur inégale; finalement, ces chloroplastes s'agglomèrent (Pl. I, 2).

Les inclusions amylacées des chloroplastes normaux sont libérées, tout en restant sensibles à la réaction d'iode (1). Elles sont isolées ou plus ou

(1) Réactif de l'amidon utilisé :

eau distillée.....	300 cc.
iode cristallisée.....	1 gr.
iodure de potassium	2 gr.

moins agglutinées en groupes plus ou moins grands, mais se présentent toutes en forme de fuseaux. Par ce dernier aspect, elles paraissent avoir subi l'influence de la pesanteur, après avoir perdu le soutien que leur offre le substratum chloroplastidaire dans une cellule normale.

Le noyau de forme circulaire ou elliptique devient digité et perd peu à peu sa structure, au point qu'il se confond avec le reste du cytoplasme. La chromatine nucléaire se condense en forme de granules de dimensions différentes. L'auréole périnucléolaire s'accroît ; le nucléole grossit, s'allonge, paraît se vacuoliser et aboutit à une fragmentation (Pl. I, 4).

On trouve également des gouttelettes de graisse dans une cellule altérée ; elles persistent dans la cellule, même si celle-ci avait été traitée par l'hypochlorite de soude, et se colorent par le Soudan III en rouge-brun et par l'acide osmique en noir.

Les tannins colorables par le perchlorure de fer à 20 % en bleu-noir, par l'acide osmique à 1 % en noir, par le bleu de méthylène à 1/300.000 après quelques heures en bleu, et par le bichromate de potasse à 4 % en brun-jaune se trouvent surtout dans les cellules épidermiques de la région parasitée.

Les altérations de la structure cytoplasmique sont beaucoup plus accentuées dans les cellules palissadiques que dans les cellules du mésenchyme lacuneux.

La présence d'un suçoir à l'intérieur de la cellule ne nous semble pas déterminer par elle-même une altération aussi profonde (Pl. I, 3). Bien que les chloroplastes aient pris une forme circulaire, le noyau présente la même forme que celui de la cellule voisine où l'on voit également des granules chromophiles ; le nucléole ne manifeste, lui non plus, aucune modification en comparaison avec celui du noyau d'une cellule fortement altérée, dans laquelle le suçoir ne s'est pas introduit.

Quoi qu'il en soit, nous ne croyons pas qu'on puisse attribuer d'une manière formelle ces modifications cytoplasmiques à l'action directe du parasite. Nous dirons que cette altération est une suite de l'histolyse et de la rupture d'unité physiologique du tissu ainsi que de sa dessiccation.

Si nous comparons nos préparations avec les dessins donnés par J. ERIKSSON [57], dans son dernier traité sur les maladies des plantes, nous constatons que les chloroplastes au stade arrondi correspondent au corps que l'auteur désigne comme mycoplasme. Le suçoir représenté dans notre figure (Pl. I, 3) correspondrait à ce que J. ERIKSSON considère comme ébauche mycélienne provenant de la différenciation du mycoplasme. Cette théo-

rie du mycoplasme fut, du reste, discutée par J. BEAUVÉRIE [10, 11], dans le cas des rouilles des céréales et de la maladie de la mosaïque de la Pomme de terre.

EXAMEN DE LA TIGE. — Le *Phytophthora infestans* évolue aussi dans la nervure médiane et de là, peut continuer son chemin dans le pétiole jusque dans la tige. La nervure étant moins consistante que le pétiole, subit généralement une nécrose complète tandis que le pétiole peut subir seulement des altérations locales qui s'arrêtent dès que les conditions ambiantes deviennent défavorables à l'évolution du parasite. On remarque par ci, par là des taches de nécrose locale, qui proviennent d'infections isolées.



Fig. 3. — Coupe dans le tissu collenchymateux de l'aile d'une tige, le mycélium palmé se trouve à l'intérieur de la cellule, et est pourvu de suçoirs.

Nous observons ce même phénomène sur les tiges de la plante de pomme de terre qui sont ptérogones, c'est-à-dire à angles garnis d'ailes. Ces dernières étaient attaquées et brunissaient en premier.

L'aspect morphologique du mycélium dans le tissu de ces ailes ne diffère guère de celui qu'il affecte dans les autres tissus ; il est large, lobé et pourvu de suçoirs (fig. 3). Il est à remarquer seulement que la partie du mycélium que nous représentons se trouve à l'intérieur de la cellule. Cela s'expliquerait par le fait que le tissu des ailes est de nature collenchymateuse, les méats de ce tissu étant obturés, et le mycélium ne pouvant s'y développer, il dissocie les cellules à l'endroit le moins collenchymatisé et pénètre à travers leur membrane, qui doit être moins résistante à l'endroit du décollement. Ici, aussi, la membrane cellulaire forme l'ourlet cicatriciel autour de la base de la partie intracellulaire du mycélium.

Nous avons été frappé par une grande abondance de substances grasses à la surface et à l'intérieur du tissu parasité.

Le parasite pénètre aussi à d'autres endroits de la tige : ainsi, nous voyons apparaître çà et là des taches brunies à sa périphérie. Ces taches s'agrandissent si les conditions extérieures, la température, l'humidité sont favorables au développement du parasite qui peut y produire des organes fructifères. Le mycélium ne se trouve pas uniquement dans la région nécrosée, nous le trouvons aussi dans la région plus profonde ayant conservé son aspect normal, où les chloroplastes eux-mêmes n'ont pas subi d'altération; cela s'expliquerait par la consistance et l'épaisseur de la tige et la difficulté d'accès des facteurs secondaires.

EXAMEN DU FRUIT. — La baie de la Pomme de terre atteinte par le mildiou présente aussi macroscopiquement des taches brunies à l'endroit desquelles l'épiderme s'affaisse et se ride à mesure que la dessiccation progresse. Le parasite se développe d'une façon luxuriante dans le tissu parenchymateux de la baie, dont les cellules volumineuses, à membranes peu résistantes, paraissent être elles-mêmes le siège du mycélium (Pl. III, 5 et Pl. II, 1); d'autre part le mycélium intercellulaire paraît déterminer une gouttière dans la membrane cellulaire et on dirait que le mycélium s'incruste dans celle-ci (Pl. II, 1). Toutefois, il est bien difficile de distinguer au microscope ces deux positions.

Le mycélium, en lui-même, ne présente morphologiquement aucun aspect différent des précédents. Il est, comme ailleurs, très ramifié ou plutôt lobé et pourvu surtout de suçoirs mamelliformes. Sur la figure 1, Pl. II, nous représentons ce mycélium contenant de nombreux noyaux, son protoplasme est d'une structure presque réticulaire, les cytosomes réguliers, très chromophiles, sont disposés sur les trabécules protoplasmiques. A l'endroit marqué par la lettre « a », nous voyons un étranglement du mycélium au passage à travers la membrane cellulaire; le protoplasme condensé s'étire dans cet étranglement et se colore fortement par l'hématoxyline.

En général, on est d'avis que le mycélium du *Phytophthora infestans* se distingue du mycélium d'autres parasites par l'absence de cloisons. Ce caractère paraît être général si l'on entend un mycélium vivant, car nous avons souvent constaté que le mycélium vidé de son plasma est nettement cloisonné quel que soit l'organe parasité (Pl. III, 5).

EXAMEN DU TUBERCULE. — Quant au tubercule de pomme de terre envahi par le *Phytophthora infestans*, il a déjà été dit, au début de cet exposé, qu'il est, en général, couvert de taches brunes, sous lesquelles le tissu devenu moins turgescent s'affaisse et se ride comme dans un fruit parasité.

Un tel tubercule sectionné présente des taches brunies, pouvant s'étendre sur toute la périphérie de la section.

Les méthodes de coloration des coupes prélevées à la limite du parenchyme bruni et non altéré, ont été décrites dans la partie sur la technique concernant la recherche du parasite.

Le mycélium se trouve aussi bien dans la région brunie que dans la région voisine non altérée. Sa structure morphologique est identique avec



Fig. 4. — Coupe dans un tubercule : le mycélium est en palmette, les suçoirs sont en forme de massue, la membrane cellulaire présente de nombreuses perforations (coupe à la main, colorée au bleu lactique).

celle du mycélium qui se trouve dans le tissu d'autres organes de la plante. Il est large, lobé et digité (fig. 4).

Les suçoirs, très nombreux, sont en forme de massue, de crochet, filiformes, spiralés, et peuvent même être formés de deux parties différentes; la postérieure étant morphologiquement bien différenciée et effilée, avec un canal à peine visible et une membrane très épaisse. D'autres suçoirs ont un canal plus distinct quoique aussi étroit, leur membrane est généralement plus épaisse que celle du mycélium (fig. 5, 6, 7 et 8).

Si la plupart de ces suçoirs nous paraissent être un peu rétrécis ou étranglés à leur base, nous supposons que cet étranglement est dû à ce que l'orifice de la membrane à travers lequel ils pénètrent dans la cellule hospitière, ne s'élargit pas proportionnellement à la croissance du suçoir.

L'élargissement de ces orifices est d'autant plus difficile que presque tous présentent à leurs bords un épaississement annulaire de la membrane cellulaire, ressemblant à un bourrelet cicatriciel très réfringent et se colorant plus intensément que le reste de la membrane (fig. 5).

G. DELACROIX [50] considérait que le mycélium du *Phytophthora infestans* dans le tubercule, pénètre, lui-même, dans la cellule. Outre les cas que nous avons déjà décrits et ceux que nous décrirons plus loin nous n'avons pas eu l'occasion d'apercevoir le mycélium à l'intérieur de la cellule. La membrane des cellules du tubercule nous paraît être plus résistante que celle d'autres organes. Selon nos observations, les suçoirs seuls pénètrent dans les cellules parenchymateuses du tubercule.

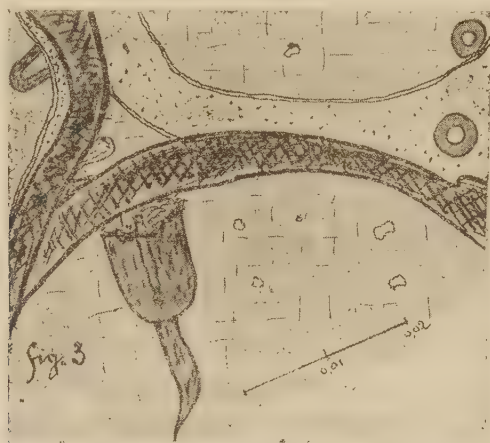


Fig. 5. — Coupe dans un tubercule : le suçoir est pourvu d'un appendice secondaire.

La membrane de ces cellules présente de nombreuses perforations dont l'origine, comme nous l'avons déjà interprété, serait due à des communica-

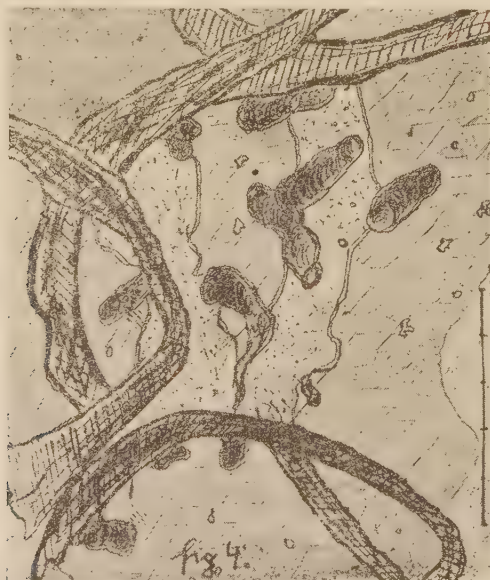


Fig. 6. — Coupe dans un tubercule : le mycélium porte de nombreux suçoirs.

tions protoplasmiques entre les cellules. Les perforations à travers lesquelles la pénétration a eu lieu sont de forme circulaire et à bord épaissi, les autres sont de forme irrégulière sans épaississement marginal; elles sont particulièrement visibles dans les membranes des cellules qui se sclérifient, cellules qui sont fréquentes dans le parenchyme du tubercule et que nous nommons des scléréides.

Dans quelques cellules nous avons remarqué la présence de suçoirs sans mycélium afférant; il est donc probable que ces suçoirs se séparent du mycélium.

Ces suçoirs peuvent-ils évoluer en un mycélium? Voici peut-être encore un moyen de propagation du parasite.

Les membranes des suçoirs sont toujours plus chromophiles que celles du mycélium, et ces dernières se colorent moins intensément que la mem-

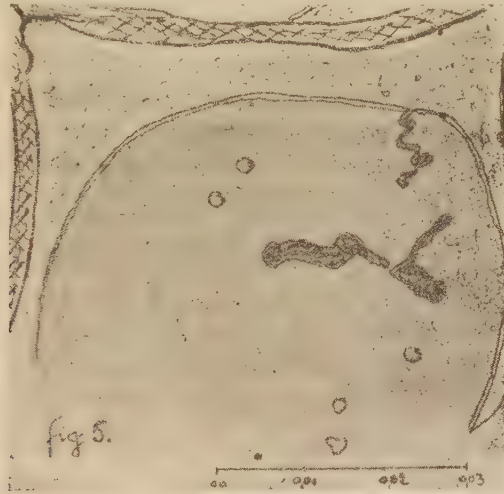


Fig. 7. — Coupe dans un tubercule : la membrane présente de nombreuses perforations, les suçoirs sont filiformes et spiralés.

brane cellulaire de l'hôte. Cela semble être dû aux différences d'épaisseur de ces membranes et à la différence de leur composition chimique, question que nous n'avons pas abordée.

Au cours de l'examen des coupes des tubercules parasités nous constatons une dégradation de grains d'amidon. Ces grains d'amidon portent des fissures centrifuges, à partir du hile, dont la région paraît être quelquefois totalement désintégrée, et se colore alors très intensément (fig. 9). Cette altération s'étend sur toute la partie centrale des grains d'amidon; ceux-ci nous paraissent avoir une structure discoïdale, où les disques de plus en plus petits à partir de la base, sont disposés parallèlement, ou tout au

plus, légèrement inclinés par rapport à leur axe commun, qui, réunissant leurs centres, passe par le hile.

Quel que soit le colorant employé, ces grains d'amidon se colorent d'une manière particulièrement intense là où les disques paraissent être séparés les uns des autres, et dans les fissures périhilaires.



Fig. 8. — Coupe dans un tubercule : le suçoir coupé longitudinalement présente un canal étroit et des parois épaisses.

Nous n'avons observé aucune altération centripète ou périphérique des grains d'amidon.

La teneur en sucres réducteurs dans un tubercule parasité paraît être supérieure à celle d'un tubercule indemne.

Le chlorhydrate de phénylhydrazine (1) agissant séparément au bain-marie sur les coupes provenant de tubercules sains et parasités, forme des cristaux effilés, disposés en pinceaux qui ont tout à fait l'aspect du glucosazone ; le point de fusion de ces cristaux n'a pas été déterminé. Au cours de cette réaction, nous avons observé que le tube contenant des coupes de tubercules malades se chargeait beaucoup plus et plus vite de ces cristaux, à dose égale de réactif et de coupes, que le tube contenant des coupes de tubercules sains.

(1) Réactif neutre d'osazone :

chlorhydrate de phénylhydrazine.....	3 gr.
acétate de sodium neutre.....	4 à 5 »
eau distillée	Q. S. P. 30 »

Le *Phytophthora infestans* est-il, lui-même, la cause finale de la décomposition des tubercules de pommes de terre ?

Nous sommes aussi d'avis que le mycélium de ce parasite déterminant une histolyse partielle du tubercule ne fait qu'ouvrir la porte à l'influence des agents secondaires.

Le brunissement est probablement dû, en premier lieu, aux processus d'oxydation de diverses substances contenues dans les espaces intercellulaires et dans les cellules elles-mêmes. La dissociation des tissus par le para-

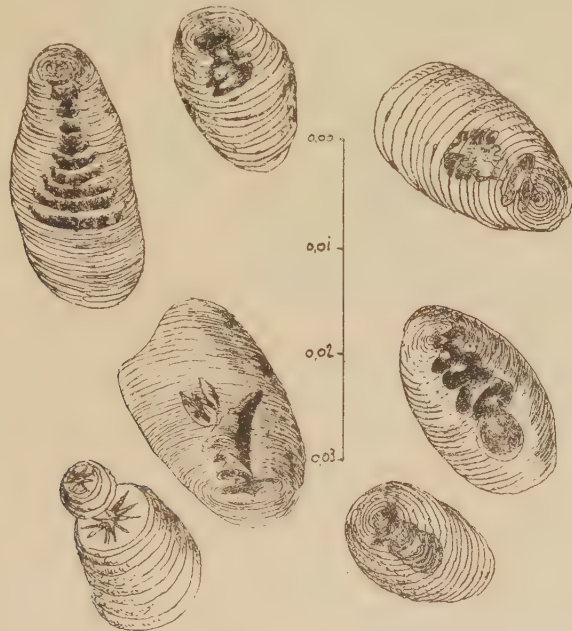


Fig. 9. — Grains d'amidon dans un tubercule de Pomme de terre infecté, leur aspect après fixation et coloration.

site facilitant l'oxydation des substances inter- et intracellulaires, a lieu le plus souvent à une faible profondeur et n'entraîne pas la décomposition complète du tubercule si les conditions ambiantes : humidité et température, ne sont pas favorables à l'invasion d'autres microorganismes et surtout de bactéries. Des lésions déterminées par le parasite peuvent se subériser si les microorganismes tardent à intervenir.

L'effet nocif du mildiou sur le tubercule se traduirait par une préparation du milieu à la végétation d'autres microorganismes de nature parasitaire ou saprophytique.

Souvent l'on voit apparaître des champignons secondaires (*Fusarium* ou autres).

C'est surtout la présence des bactéries qui attira l'attention des Phytopathologistes.

ROLE DE BACTÉRIES. — Nous trouvons dans un travail de G. DELACROIX [51] des passages où il attribue la destruction des tubercules parasités par le *Phytophthora infestans* aux bactéries qu'il désigne par *Bacillus solanincola*.

Au cours de nos recherches, nous nous heurtions souvent aux bactéries, qu'il nous a été impossible d'éviter dans nos infections expérimentales avec le *Phytophthora*, et que nous avons également constatées dans les tubercules mildioués en dehors de nos expériences.

Nous représentons sur la figure 1 de la Pl. III, une coupe dans un tubercule attaqué par le mildiou et simultanément par les bactéries qui se trouvent localisées dans les lacunes et les interstices dus au passage du mycélium. Une fois que ces bactéries ont pénétré par la voie du mycélium, elles déterminent une sorte de liquéfaction laiteuse du parenchyme sans que le brunissement s'étende.

Les caractères de ces bactéries n'étant que sommairement indiqués dans les travaux connus, nous nous sommes proposés d'en établir une description plus détaillée du point de vue morphologique et biochimique.

A titre de témoins, nous avons mené ces bactéries, une fois isolées, parallèlement avec deux autres : le *Bacillus phytophthorus* et le *Bacillus carotovorus* dont nous devons les cultures pures à l'obligeance de M. le Docteur MAGROU, Chef de Laboratoire à l'INSTITUT PASTEUR DE PARIS.

Ces trois bactéries furent cultivées parallèlement sur les mêmes milieux et dans les mêmes conditions de température, d'humidité, d'aération et d'éclairage ; chaque culture fut répétée quatre fois.

Le *B. phytophthorus* et le *B. carotovorus* ayant montré une divergence de caractères par rapport aux bactéries que nous avons isolées, nous n'allons établir qu'un tableau de caractères morphologiques et biochimiques de ces dernières.

DIAGNOSE DES BACTÉRIES ISOLÉES

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES : bactéries courtes $2/1\ \mu$, à bouts arrondis, isolées, réunies par deux ou plus, aussi en chapelets de 3-5 (fig. 10).

cils (1) : 1 cil monopolaire :

(1). Les cils furent recherchés par les méthodes suivantes :

- 1) de PITSFIELD (voir SMITH, ERVIN F. [183].
- 2) de VAN ERMANGEN (voir CALMETTE, A., NÈGRE, L., et BOUQUET [25].
- 3) de LANCELIN, SEGUY et DUBREUIL (voir *Revue de la Société de Biologie*, 12 mars 1926, nr. 9, pp. 556-562).

Quelle que soit la méthode, la propreté du porte-objet est essentielle. Les plus grandes difficultés se présentent à la préparation de la suspension de bactéries. Il nous arrivait de trouver les bactéries démunies de leurs cils et ceux-ci enchevêtrés en paquets. Lorsque nous ajoutions quelques gouttes de glycérine à l'eau pour la suspension, des bactéries se déliaient sans que les cils se détachassent.

spores :	+ (présentes)
capsules :	0 (absentes)
Gram :	négatif ? (culture de 5 jours).

COMPORTEMENT EN CULTURE : *bouillon gélosé* : après deux jours trace, 4^e jour développement accéléré, colonies digitées vers l'ouverture du tube de culture; pellicule grise, visqueuse devenant mate.

gélatine à l'eau : colonies visqueuses, liquéfaction le troisième jour.

en piqûre : liquéfaction à la surface le troisième jour.

gélose à l'eau : développement lent; colonies luisantes, grisâtres.

en piqûre : développement le long de la piqûre.

extrait de pomme de terre liquide : trouble à la surface, floculation.

extrait de carotte : dès le début pellicule; après : trouble et floculation.

morceau de pomme de terre crue : développement actif, liquéfaction; pellicule grise, ridée; pas d'altération d'amidon.

morceau de carotte crue : développement faible.

morceau de navet cru : développement normal, culture luisante.

blanc d'œuf : liquéfaction lente à la surface.

sérum sanguin solidifié de LOFFLER : développement bon, digestion en forme d'ornière jaune; liquéfaction avec virage au rose.

lait tournesolé : rougit au début, bleuit ensuite à la surface, coagulation et liquéfaction.

solution de COHN (1) : développement actif à la surface, suivi d'un trouble.

eau peptonée additionnée de saccharose à 3 % : trouble du haut, production de gaz, réaction alcaline.

— — *lactose à 3 %* : trouble du haut, production de gaz, réaction alcaline.

— — *maltose à 3 %* : trouble du haut, production de gaz, réaction alcaline.

— — *lévulose à 3 %* : production d'acide non volatil, trouble.

— — *mannite à 3 %* : production de gaz, trouble.

production d'indol (2) : positive.

(1). Composition de la solution de COHN :

eau distillée.....	1.000
phosphate de potasse acide.....	5
sulfate de magnésie.....	5
tartrate d'ammonium.....	0,5

(2). L'indol fut recherché par la méthode de SALKOWSKY : à 15 cc. d'une culture à l'eau peptonnée à 5 %, additionnée de 0,5 % de NaCl, et âgée de 6-8 jours, ajouter 30 gouttes de solution de nitrite de potassium à 1/1.000, agiter le mélange légèrement, couler le long du verre 20 gouttes d'acide sulfurique chimiquement pur; coloration rose indique présence d'indol.

production de gaz : en culture sur pomme de terre, saccharose, mannite, maltose et lactose.

bouillon peptoné à 15 %, additionné de 8 % d'alcool éthylique : tolère, colonies petites circulaires.

— — additionné de 3 % de soude en solution normale : développement actif, pellicule humide.

— — additionné de 30 % de chloroforme : tolère.

— — 3 % de chlorure de sodium : tolère, pellicule.

production de nitrites (1) : trace.

aérobie ou anaérobie : aérobie, sauf en solution de Cohn.

action de la température : de 35° à 45° C. pendant 30 minutes : ralentissement ; de 50° à 75° C. pendant 30 minutes : reprise du développement à la température normale.

En dehors de ce qu'on trouve dans les travaux de G. DELACROIX [51] on trouve aussi dans ceux de E. ROSE [171], une description de bactéries iso-

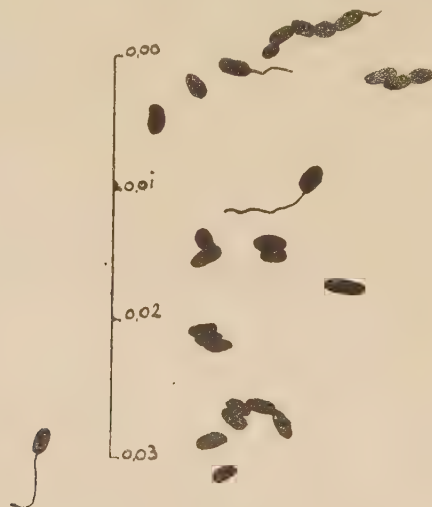


Fig. 10. — Bactéries isolées d'un tubercule mildioué.

lées de tubercules phytophthorés, dénommées *Bacillus lactescens*. Les caractères donnés sont différents de ceux des bactéries décrites par nous.

Nous avons en plus comparé ces bactéries avec le *Bacillus subtilis* et *Bacillus mesentericus vulgatus* (FLUGGE). Elles se rapprocheraient plutôt de

(1). Recherche de nitrites dans des cultures en bouillon peptonné :

bouillir 25 cc. d'eau distillée avec 0,5 gr. d'amidon de pommes de terre :

mélanger 1 cc. de cette dernière solution avec 1 cc. d'iodure de potassium fraîchement préparée à 1/250, verser ce dernier mélange dans la culture à examiner et ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré à 2:1 ; une coloration bleu-noire prouve la présence de nitrites.

ces dernières par quelques caractères, mais pour affirmer une identité absolue, il aurait fallu les étudier parallèlement dans les mêmes conditions.

*
* *

Biologie du parasite

Cultures pures et influence de différents milieux sur son développement

HISTORIQUE DES CULTURES PURES. — La culture du parasite sur milieux artificiels fut réalisée par plusieurs auteurs. E. HALLIER [72] et L. HECKE [65] l'ont cultivé sur des extraits de fruits.

Les expériences de MATRUCHOT et MOLLIARD [2] de culture du *Phytophthora infestans* sur des milieux divers, liquides et solides comme pruneaux, bananes, tomates, tubercules de pomme de terre, potiron, solution de glucose, de saccharose, etc..., sont le point de départ de toutes les cultures pures du parasite. Ces auteurs ont en même temps étudié l'influence de la température sur le développement de ce champignon. En conclusion de l'ensemble de leurs expériences, ils ont attribué au *Phytophthora infestans*, un caractère parasitaire.

Depuis, tous les auteurs qui ont étudié ce parasite sont parvenus à augmenter le nombre de milieux propices à son développement.

G. PETHYBRIDGE et ses collaborateurs MURPHY, LUTMANN et autres, ont introduit un milieu à base de « quaker-oat » qui est devenu presque classique

M^{lle} DE BRUJIN [18] a appliqué, au cours de son étude sur la biologie du parasite, des milieux très divers comme les chaumes : de Blé, de Seigle et d'Avoine, tiges de Pommes de terre, la terre, etc...

A. KOSSOWICZ [95] a cultivé, en même temps que d'autres champignons, le *Ph. infestans* en milieux organiques et inorganiques : acide urique et hippurique, glycocolle, guanine, et différents nitrites et nitrates.

MILIEUX UTILISÉS. — Les milieux dont nous nous sommes servi pour la culture du parasite sont les suivants :

- a) milieu au quaker-oat (de PETHYBRIDGE) à 2 % de gélose (1);
- b) milieu aux haricots de 2 % de gélose;

(1. Préparation du milieu au quaker-oat :

Faire bouillir 30 gr. de quaker-oat bien farineux dans 500 cc. d'eau douce, au bain-marie pendant une demi-heure environ, éviter la formation des grumeaux, ajouter 2 % d'agar-agar dissout préalablement et prolonger la cuisson pendant une heure en remuant aussi souvent que possible ; le tout est à répartir en tubes de culture.

- c) extrait de tubercule de pomme de terre cru à 2 % de gélose;
- d) morceau de tubercule de pomme de terre ;
- e) chaume de blé;
- f) solution de glucose à 3 % liquide;
- g) — — — à 3 % peptonisée à 5 %;
- h) — — — de saccharose à 3 %;
- i) gomme arabique à 30 % dans l'eau distillée;
- j) milieu synthétique de PETRI, composé de :

nitrate de chaux.....	0 gr. 40
sulfate de magnésie.....	0 — 15
phosphate monopotassique.....	0 — 15
chlorure de potassium.....	0 — 06
eau	1.000 —

- k) milieu synthétique de PETRI à concentration décuple;
- l) milieu de terre arable;

tous les milieux ci-dessus furent stérilisés à l'autoclave à 125° pendant 30 minutes;

m) en outre, nous avons aussi employé des morceaux de tubercules de pomme de terre prélevés aseptiquement.

Toutes nos cultures furent gardées à la température de 15-18° environ, dans l'étuve, excepté celles faites sur de la terre, que nous avons, durant toute notre expérience, maintenues, enfouies, sous cloche, dans le jardin de la Station.

ad a) — Le milieu au quaker-oat, préparé selon la formule de PETHY-BRIDGE et reconnu comme le plus favorable à la culture du *Phytophthora infestans*, nous a donné de bons résultats. Toutefois nous nous sommes aperçu qu'un repiquage direct sur quaker-oat d'une culture obtenue sur pomme de terre crue était plutôt difficile à réaliser. Nous avons obvié à cet inconvénient en procédant de manière suivante : un morceau de tubercule aseptiquement prélevé est déposé dans un tube contenant le milieu au quaker-oat, et semencé avec le champignon ; peu à peu, le champignon se développant sur ce morceau de tubercule abandonne ce dernier et envahit le milieu au quaker-oat ; un prélèvement fait à la périphérie de la culture et transporté dans un tube au quaker-oat seul, donne toujours de bons résultats. Un nouveau repiquage sur ce milieu peut être continué avec succès.

ad b) — Le milieu à base de haricots ne le cède en rien au précédent. De plus, il était plus facile d'obtenir un développement du parasite repiqué directement du tubercule sur ce milieu que dans le cas précédent.

Ces deux derniers milieux étant très favorables au développement des bactéries, il est très utile d'opérer dans les conditions d'aseptie rigoureuse. On préconise, pour empêcher l'évolution des bactéries, une faible acidification des milieux par l'acide citrique.

ad c) — L'extrait de tubercules de pomme de terre stérilisé par la chaleur ne nous a jamais donné de résultats appréciables. Le champignon y végète péniblement, la culture fut trouvée, après neuf mois, dans le même état où elle se trouvait 15 jours après l'ensemencement.

ad d et e) — Tous les essais de culture du champignon sur tubercule de pomme de terre et le chaume de blé stérilisé à la chaleur ont été négatifs.

ad f) — Le parasite se développait particulièrement bien en solution de glucose à 3 %, à la température de 15 à 18° et à l'abri de la lumière du jour. Un petit morceau de tubercule de pomme de terre portant le parasite fut placé dans un flacon d'ERLENMAYER contenant la solution de glucose. Le parasite ne tarda pas à envahir progressivement la solution et, à mesure que le niveau de cette dernière s'abaissait, le parasite se développait à la surface du liquide et produisait des organes aériens fructifères.

Une telle culture se conserva plusieurs mois sans la moindre altération.

ad g) — Ce dernier milieu additionné de 5 % de peptone ne fut guère favorable au parasite. Il est à noter que ces cultures ont été envahies très vite par les bactéries.

ad h) — Le développement du champignon est très lent en solution de saccharose à 3 %.

ad i) — La gomme arabique, en solution à 30 % dans l'eau distillée, est un très bon milieu. A mesure que ce dernier se solidifie, le champignon produit des végétations aériennes très abondantes. La formation des conidio-phores et des conidies est plus rapide si l'on étend ce milieu sur des porte-objets stérilisés préalablement en boîtes de PETRI. L'humidité du milieu diminuant, le développement des bactéries est entravé. La culture du *Phytophthora infestans* dans ces conditions est très durable bien que la couche du milieu soit très mince; nous avons obtenu, même après trois mois, une reprise du développement au repiquage sur d'autres milieux.

ad j) — La solution de PETRI [153], généralement tenue pour un milieu très propice au développement du *Blepharospora* et dans lequel ce dernier produit très vite des sporanges et des zoospores, n'offre aucun intérêt particulier pour la culture du *Ph. infestans*, qui s'y développe médiocrement.

ad h) — Par contre, la même solution, dix fois plus concentrée, provoque des modifications très profondes du parasite que nous décrirons plus loin. Cette solution a été employée pour des cultures en gouttes pendantes en cellules de VAN TIEGHEM.

Les cultures pures sur de la terre ont été déjà réalisées par M^{ll}. DE BRIJN.

Nos essais de culture du *Phytophthora infestans* sur terre ont été effectués de la manière suivante : des tubes d'une longueur d'environ 32 cm. et d'un diamètre de 5 cm., ouverts aux deux extrémités et au milieu, ont été remplis, l'un de terre légère, l'autre de terre forte, leurs ouvertures étant fermées par des tampons de coton. Les tubes, ainsi préparés, ont été stérilisés d'abord au four à une température de 180° environ ; la terre a été humidifiée à nouveau aseptiquement avec de l'eau stérile. Puis ils ont été restérilisés à l'autoclave à 125° pendant 30 minutes.

Nous avons déposé dans cette terre, à une de leurs extrémités, un petit fragment de tubercule de pomme de terre avec la culture pure du *Phytophthora infestans* tout en prenant, pendant cette manipulation, toutes les précautions d'aseptie possibles. Ces tubes furent gardés dans le jardin de la Station, enfouis dans la terre à une profondeur d'environ 20 cm. par l'extrémité ensemencée, couverts d'une cloche. Ils y restèrent depuis le 20 mars, l'un jusqu'au mois d'août, l'autre jusqu'au mois d'octobre, c'est-à-dire pendant une saison pluvieuse, et à variations de température assez brusques. Ils ont été pendant ce temps observés presque tous les jours ; on remarquait à travers le verre le feutrage s'étendant à 5 ou 8 cm. environ au-dessus du morceau de tubercule déposé. L'un de ces tubes contenant de la terre forte fut examiné le 20 août, nous avons trouvé à différentes distances de l'emplacement du tubercule, des traces du mycélium et de conidies. Le morceau de tubercule s'est trouvé décomposé. Le deuxième tube contenant de la terre légère fut ouvert et examiné au commencement du mois d'octobre. Dans celui-ci, nous avons trouvé d'abord, au voisinage de l'ouverture du milieu, un hyphomycète. Dans la région où nous avons déposé la culture du *Phytophthora*, nous n'avons trouvé que des débris du fragment de tubercule, et, à l'examen microscopique, nous avons constaté des traces de conidiophores, de conidies et de corps correspondant aux spores de repos.

Ces spores de repos sont d'un brun jaunâtre sur le frais. Leur épispore, bien qu'épais, sans ornement notable, est transparent et permet d'apercevoir des sphérules très nombreux à l'intérieur de la spore. Nous n'avons pas vu de traces d'anthéridies (Pl. IV, 16).

Ces corps colorés avec le réactif de GUÉGEN révèlent que les sphérules sont de nature grasseuse. Ces dernières sont entourées d'une mince couche de protoplasme coloré en bleu et d'une enveloppe correspondant à l'endospore. Certaines de ces spores de repos ne font voir que l'exospore. Leur dimension varie dans des limites très larges, presque de un à cinq.

Nous croyons bien avoir le droit de considérer ces spores comme des œufs du *Phytophthora infestans* bien que les conditions d'aseptie de l'en-

droit où le tube fut maintenu n'aient pu être rigoureuses puisque l'expérience fut exécutée dans un jardin. D'ailleurs nous n'avons pas trouvé trace d'aucun autre organisme pouvant produire des œufs.

D'autre part nous avons rempli de terre des pots que nous avons ensuite stérilisés et dans lesquels nous avons placé des tubercules de pomme de terre stérilisés. Dans ces pots, nous avons enfoui à une profondeur de 4 cm, et hors contact avec les tubercules qui s'y trouvaient, des fragments de tubercule portant la culture du parasite. Ces pots furent maintenus enfoncés dans la terre et couverts de cloches. Deux de ceux-ci furent transportés le troisième jour dans la serre. Quelques jours plus tard, nous avons constaté les traces du parasite à leur surface. Ces pots ayant été envahis par



Fig. 11. — Mycélium dans une culture de quatre mois sur un petit fragment de tubercule s'étant desséché progressivement.

un *Mucor*, nous les avons mis dehors et avons cessé nos observations en attendant l'effet du *Phytophthora* sur les tubercules qu'ils contenaient.

ad m) — Pour la culture du *Phytophthora infestans* sur des fragments du tubercule de pommes de terre, prélevés aseptiquement et déposés en tubes sur un milieu gélosé quelconque, nous disposons de tubercules de différentes variétés. Nous devons ceux-ci à l'obligeance de M. DUCOMET, Professeur à l'ÉCOLE NATIONALE D'AGRICULTURE DE GRIGNON, que nous prions de trouver ici l'expression de nos remerciements respectueux.

L'aseptie avait été réalisée de la façon suivante : le tubercule fut plongé dans l'alcool à 90° pendant environ 15 minutes ; il fut flambé ensuite et découpé avec un scalpel flambé, lui-même, avant chaque coupe. Le fragment prélevé fut trempé dans l'alcool et flambé à son tour et placé dans un tube

à culture dont l'extrémité ouverte était tenue dans la flamme durant l'opération.

Le *Phytophthora infestans* se développe différemment sur chacune de ces variétés. Sur des morceaux de tubercule des variétés qualifiées résistantes, comme la « Bravo », nous n'avons jamais obtenu un développement appréciable, tandis que sur des variétés sensibles comme « Eigenheimer » le parasite se développait très bien, mais la culture fut bientôt envahie par des bactéries. Les variétés intermédiaires, comme « Shamrock » et « Rouge du Soissonnais » sont celles qui se prêtent le mieux à la culture du parasite.

Dans une autre expérience nous avons placé de très petits cubes de tubercule, d'environ 5 mm³, aseptiquement prélevés dans des tubes contenant une mince couche d'un milieu gélosé, et stérilisé. Ces tubes ouverts à leurs deux extrémités et bouchés avec du coton furent maintenus en position horizontale. Les cubes de tubercule ensemencés se desséchaient progressivement sans que le champignon cessât d'y végéter. Nous trouvâmes après quatre mois des filaments mycéliens de forme habituelle, pleins de protoplasme, malgré la dessiccation complète des fragments de tubercule (fig. 11).

EFFETS BIOLOGIQUES. — A l'examen microscopique de nos cultures nous avons constaté une grande diversité dans la forme et les dimensions des conidies. Ce polymorphisme des conidies fut l'objet d'une étude très détaillée de L.-H. LEONIAN [100], qui a essayé d'en tirer des caractères taxonomiques de différentes *Phytophthorées*.

En outre, nous avons remarqué que les cloisons des hyphes sont très fréquentes. Elles apparaissent aussi bien dans les conidiophores, que dans les hyphes végétatifs. A mesure que l'hyphe se vide de son protoplasme, la partie vidée se sépare par une cloison, pour ainsi dire, cicatricielle ; les ramifications du conidiophore s'individualisent de la même façon en se séparant de celui-ci par une cloison (fig. 12).

Les conidies sont quelquefois pédonculées et peuvent se former au-dessous du renflement, qu'on considère comme point d'attache de la conidie au conidiophore. Ces renflements du conidiophore correspondent plutôt au stade initial de la formation d'une conidie, qui, pour une cause ou pour une autre, aurait pu avorter.

L'hyphe végétatif contient de grosses vacuoles, colorables par le rouge neutre à 1/10.000. Sa destruction est précédée d'une fragmentation de ces vacuoles, et de l'apparition de nombreux globules de graisses, de dimensions différentes, que nous avons colorés par le bleu d'indophénol (fig. 13).

Le parasite, une fois adapté au milieu à base de quaker-oat gélosé, il a été aisé de l'y repiquer directement avec succès. Mais, désireux de nous

servir ultérieurement de nos cultures pour inoculer différents organes de la Pomme de terre, nous nous sommes proposé de le réadapter sur les morceaux de tubercules de crainte que le champignon ne perde de sa virulence envers le tissu vivant.

Et nous avons, en effet, remarqué qu'une souche, maintenue pendant plusieurs générations de suite sur quaker-oat, et repiquée sur morceau de tubercule, ne donnait pas lieu à un développement aussi abondant que d'autres souches. Le morceau de tubercule de la culture qui attira particulièrement notre attention, était plutôt desséché.

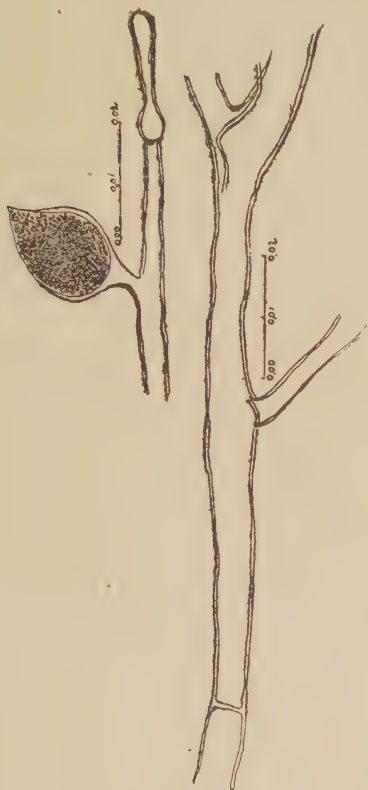


Fig. 12. — Conidie pédonculée avec conidiophore vide et cloisonné.

En examinant une partie de cette culture, nous avons constaté la formation de gros corps arrondis ou pyriformes, isolés ou en grappes, chargés de grosses gouttelettes de graisse colorables en rouge-brun par le Soudan III que contient le réactif de GUÉGUEN. Le protoplasme peu abondant se colorait en bleu par le bleu coton; les membranes restaient incolores ou légèrement bleuies, mais d'une manière passagère. Par leurs caractères morphologiques et cytoplasmiques, les uns correspondent aux oogones, les autres aux spores de repos ou aux œufs du parasite.

Les œufs du *Phytophthora infestans* ont été signalés et décrits déjà par plusieurs auteurs parmi lesquels : C.B. PLOWRIGHT, W.G. SMITH, G.H. PETHYBRIDGE et ses collaborateurs, L.R. JONES et M^{lle} DE BRUJIN. Les uns les trouvèrent dans

les tissus parasités, les autres en cultures pures. M. PETHYBRIDGE et ses collaborateurs les obtinrent sur milieux au quaker-oat et à l'extrait d'avoine. M^{lle} DE BRUJIN les trouve sur un milieu de farine de blé et, à la suite de brusques variations de température, sur d'autres milieux. Bref, l'apparition des œufs du *Ph. infestans* en cultures pures et dans les conditions expérimentales fut si fréquente que ces auteurs ont été amenés à chercher une définition des conditions dans lesquelles ces organes apparaissent. Ainsi, on

considère que la présence de la silice, la richesse du milieu en lécithines, et les variations brusques de température, déterminent la formation d'œufs.

Les corps trouvés par nous, environ un mois après le repiquage du parasite d'une culture au quaker-oat, sur un morceau de tubercule de pomme de terre, se sont formés par une sorte d'hypertrophie de l'hyphe qui s'en sépare par une cloison très prononcée. Cette partie individualisée peut, à son tour, se diviser en plusieurs digitations (Pl. IV, 7), dont chacune se renfle à son extrémité, qui se gorge de globules de graisse, de différentes dimensions. Le protoplasme y est peu abondant et finement granuleux.



Fig. 13. — Hyphes, dont l'un contient des graisses, l'autre de grosses vacuoles, et dont le troisième est vide.

Sur la planche IV, fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6, nous représentons des stades de différenciation plus avancée. Sur la figure 5 de la Pl. IV, l'endospore est très développée et entoure des gouttes de graisse mélangées d'un peu de protoplasme; en dehors de l'endospore, il y a encore une masse protoplasmique, qui constitue le périplasme de l'œuf, qui, lui-même, est revêtu de l'épispore, formée par l'ancienne membrane de l'oogone plissée et épaissie et qui paraît ainsi être ornée d'aspérités.

Quelques-uns de ces corps, surtout ceux qui sont intermédiaires entre l'œuf et l'oogone, montrent, pour la plupart, à leur base, un autre corps accolé contre le pédicelle, intimement adhérent à la face de l'épispore. Il correspond à l'anthéridie déjà trouvée par plusieurs auteurs. La forme de l'anthéridie est plus ou moins constante et rappelle celle d'une conidie. Sa membrane est assez épaisse, le protoplasme très dense avec de nombreux noyaux et des vacuoles très petites; les globules de graisse n'y apparaissent pas.

L'anthéridie paraît naître aux dépens de l'hyphe génératrice de l'oogone. La différenciation de l'hyphe étant une fois déclenchée, une partie de celui-ci, notamment la partie antérieure, continue son évolution en oogone, puis en œuf. La partie postérieure, à croissance ralentie, se séparant de l'oogone par une partie rétrécie de l'hyphe qui est en même temps le pédicelle de l'oogone, constitue l'anthéridie. Ce dernier organe continue son

evolution jusqu'à ce qu'il arrive en contact avec l'oogone, auquel il s'accolle intimement.

Chez d'autres Péronosporées, on a observé que la fécondation est réalisée par un tube que l'anthéridie introduit dans l'oogone. Ce tube est nommé, en raison de sa fonction, tube fécondateur.

Les auteurs, qui ont étudié les œufs du *Phytophthora infestans*, n'ayant pas vu ce tube fécondateur, supposent, outre la parthénogénèse, que l'oogone lui s'introduit dans l'anthéridie ; et que l'anthéridie entoure le pédicelle de l'oogone. En effet, on observe chez d'autres Péronosporées, au stade initial de fusion des organes sexuels, une légère proéminence de la membrane de l'oogone, qui, toutefois, disparaît lorsque le tube anthéridien s'y est introduit.

Cependant, nous avons vu que, chez le *Ph. infestans*, l'anthéridie forme ainsi un tube fécondateur, qui s'introduit dans l'oogone (Pl. IV, 4). Ce tube, une fois pénétré, se renfle à son extrémité. Il est possible que ce phénomène soit plus fréquent qu'on ne le suppose, mais l'abondance de graisse gêne l'examen des oogones et des œufs. Ou encore, peut-on admettre que l'interaction des contenus protoplasmiques des organes sexués se déroule à un stade antérieur de leur différenciation par la voie de la partie de l'hyphe qui constitue plus tard le pédicelle d'un œuf différencié. D'autre part, comme nous avons vu un grand nombre d'œufs sans anthéridie, il convient d'admettre, aussi, que la parthénogénèse est, au moins, aussi fréquente que la fécondation, si non un phénomène dominant, car les œufs que nous avons observés en culture sur de la terre, n'étaient jamais accompagnés d'anthéridies.

Il se peut qu'une variation brutale de conditions ambiantes joue le rôle prépondérant, et plus elle est brusque, moins il y a de chances d'apparition des organes sexués différenciés.

G.H. PETHYBRIDGE et ses collaborateurs distinguent deux positions de l'anthéridie par rapport à l'œuf, dans le groupe de Phytophthorées, et ils constatent une stabilité de ce caractère. De ce fait, ils proposent de grouper toutes les espèces à anthéridie amphigyne, c'est-à-dire, naissant autour du pédicelle de l'oogone, dans le genre *Phytophthora*, et de créer, d'espèces à l'anthéridie paragyne, c'est-à-dire naissant en d'autres endroits de l'hyphe oofère le genre *Nozemia*.

Dans notre cas l'anthéridie paraît être toujours amphigyne (1), à l'exception du cas représenté sur la figure (Pl. IV, 6), où nous trouvons un anthéridie, non pas amphigyne, mais ayant une origine inconnue.

A côté des œufs sans anthéridie, nous trouvions aussi des anthéridi-

(1) On ne peut cependant employer ce terme dans son sens étymologique que lorsque le pédicelle de l'oosphère s'est vidé de son protoplasme et s'est rétréci.

isolées, n'ayant aucun contact avec un œuf, mais peut-être y avait-il eu rupture au moment du montage de la préparation.

En supposant que ces modifications soient dues au changement brusque du milieu, nous avons effectué une série d'expériences pour les observer *in vitro*.

Le champignon futensemencé dans la solution de PETRI à concentration décuple, en goutte pendante. Pour ce but nous nous sommes servi de la même souche sur quaker-oat, qui, repiquée sur de la pomme de terre, a produit des organes sexuels.

Aussitôt l'ensemencement effectué, nous avons examiné la culture pour nous rendre compte de son état initial.

Nous ne trouvions dans ces cultures que des hyphes et des conidies, dont la forme et les dimensions étaient très variables.

Ces cultures en cellules de VAN TIEGHEM furent gardées au laboratoire, où la température se maintenait à environ 16° C., et elles étaient examinées tous les jours.



Fig. 14. — Formation inachevée d'un sporange (corps intercalaire) qui continue son développement en mycélium.

L'influence de ce milieu fortement minéral ne tarda pas à se manifester. Le champignon continuait son évolution mais en produisant des formes tout à fait différentes de celles sur milieu gélosé ou en solution glucosée liquide.

Les hyphes formaient des sporanges, qui, avant d'achever leur développement, émettaient à leur tour un nouvel hyphe, et sans cloisonnement (fig. 14).

Les conidies introduites de la culture au quaker-oat faisaient voir une vacuole centrale et germaient directement, produisant des tubes germinatifs à l'opercule, au point basal et, probablement, en d'autres endroits de leur surface (fig. 15). D'autres conidies prenant une forme sphérique émettaient à l'extérieur leur protoplasme en masses informes, s'entourant aussitôt d'une membrane (fig. 15). D'autres encore germaient comme ces dernières, mais les nouveaux corps prenaient nettement la forme conidienne dépourvue de la papille (fig. 16). D'autres enfin germaient par leur point basal en un mycélium se ramifiant aussitôt après être sorti de la conidie, tout

en restant attaché à cette dernière, sa membrane paraît continuer directement la membrane conidienne (fig. 17). Le protoplasme, lui-même, sorti de la conidie primitive, y abandonne une seconde membrane.

Le mycélium naissant est gorgé de graisse.

La formation de conidies présente également des anomalies. Le contenu protoplasmique se condense à l'extrémité de l'hyphe, s'en sépare par une cloison, mais sans se rétrécir à la base de la conidie, qui reste attachée à celui-ci, et est pourvue d'une papille bien nette (fig. 18).

La papille de la conidie n'est pas toujours bien différenciée. La conidie elle-même ne se détache pas toujours de son conidiophore qui continue son développement (fig. 19). L'étranglement et la cloison à la base de la conidie font quelquefois défaut. La conidie peut germer à son tour directement, en n'importe quel point (fig. 19 *i*) ou s'individualiser en sa forme anormale (fig. 19 *j*), donnant une chlamydospore.



Fig. 15. — Germination directe de conidies.

Comme ces corps ont perdu le caractère d'une conidie normale, il nous paraît préférable de les désigner sous le nom de corps intercalaires. Ces corps constituent à notre avis une forme transitoire vis-à-vis des corps de conservation, tels les chlamydospores ou même les oogones et les œufs (fig. 19, — Pl. VI, 10, 11, 12, 14).

A côté de ces formes que nous venons de décrire, nous trouvons des corps ayant une forte ressemblance avec les œufs par la présence de l'épispore et de l'endospore nettement différenciées, mais ces corps, en réalité,

dérivent d'une forme conidienne ainsi que le prouve le reliquat papillaire (Pl. IV, 12, 14).

Ces derniers corps portent à leur base un organe vidé de son protoplasme qui par sa position est comparable à une anthéridie (Pl. IV, 12, 14), et il semble se former dès le début de la malformation conidienne (Pl. IV, 10, 11).

Etant donné la présence d'un orifice sur cet organe anthéridien vidé de son contenu, nous sommes portés à admettre que cet organe a pu jouer un rôle fécondateur (Pl. IV, 14). D'ailleurs, le contact intime d'un tel organe, avec l'œuf, comme nous le représentons sur la figure 13 et 14 de la Pl. IV, bien que son origine (Pl. IV, 13) ne pût être mieux présentée, paraît plaider en faveur de notre opinion sur son rôle anthéridien.

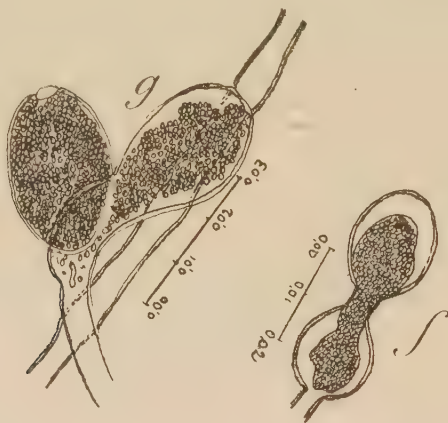


Fig. 16. — Sporangies doubles.

Nous n'avons jamais vu des spores quelconques dérivées de cet organe, cependant nous avons remarqué une germination directe (Pl. IV, 15). Il se peut que les conditions de cultures en gouttes pendantes, par suite d'excès d'humidité, ne soient pas favorables à la différenciation du protoplasme, en spores. Ces œufs se caractérisent également par l'abondance de substances grasses (1), à l'exception d'un d'entre eux représenté sur la figure Pl. IV, 14, qui ne contient que quelques gouttelettes de graisse baignant dans le protoplasme.

Il semble bien que l'apparition de spores de repos soit liée à la concentration du milieu en substances minérales.

(1). Cette substance semble de la nature lipéidique vu ses réactions avec Soudan III et acide osmique et sa propriété de se saponifier. Elle prend cependant bien les colorants vitaux, et particulièrement le rouge neutre. Ces derniers colorent d'ailleurs les graisses *in vitro*, pourvu qu'on choisisse les solvants appropriés.

OBSERVATIONS EN NATURE. — Par cela même, nous nous expliquons l'apparition d'œufs dans les tissus foliaires. L'œuf a été trouvé, en même temps que les conidies, dans des lacunes du mésophylle totalement nécrosée. Malgré l'épaisseur de notre coupe, nous n'avons vu qu'une partie d'hyphe, dont la relation avec l'œuf nous reste inconnue. L'épispore présente bien les ornements caractéristiques d'un œuf mais il n'est aucunement bruni après fixation, pas plus que celui des œufs trouvés dans nos cultures. Leur membrane ne prend pas les colorants employés (fig. 20).

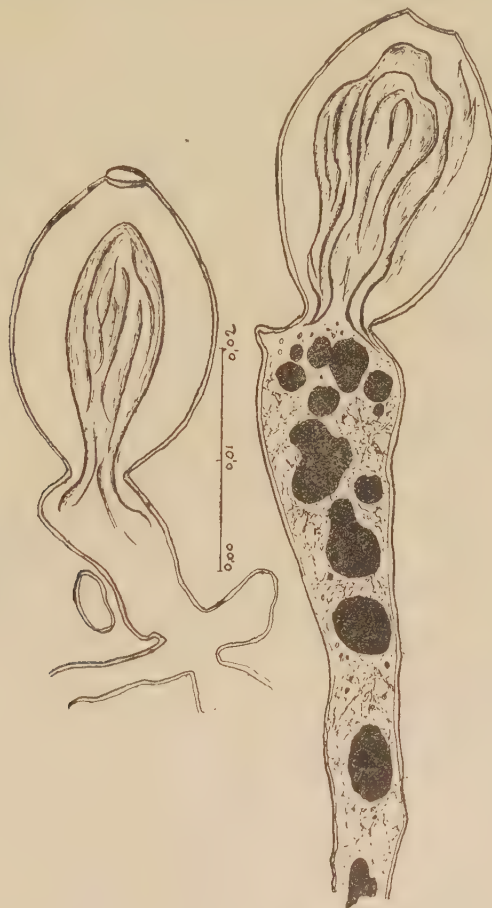


Fig. 17. — Germination directe des conidies : les tubes germinatifs contiennent des graisses, les conidies renferment une membrane résiduaire.

En examinant des coupes de feuilles faites à la main, et colorées par le réactif de GUÉGEN, nous avons constaté que les végétations extra-foliaires du *Phytophthora infestans*, qui se trouvent dans la zone nécrosée, présentent aussi de profondes modifications morphologiques et cytoplasmiques (fig. 21 h). Le contenu conidien a subi une fragmentation accompagnée de sécrétions graisseuses, on a remarqué de plus un épaissement de la mem-

brane très prononcé (fig. 21 i). Une autre conidie (fig. 21 i) présente outre la fragmentation du protoplasme et la sécrétion grasseuse, la formation d'une membrane interne que nous pouvons comparer avec une endospore.

Les hyphes eux-mêmes sont chargés de globules de graisse. Ici, nous n'avons pas vu non plus d'anthéridies, bien que nous nous soyons trouvés en présence de différents stades de différenciation de ces corps.

De ce fait, nous devons admettre qu'il y a formation d'œufs même à la surface des tissus parasités par le *Ph. infestans*, car il n'y avait trace d'aucun autre champignon.

Lorsque W.G. SMITH [185, 186] a annoncé qu'il avait rencontré dans le tissu foliaire de la Pomme de terre parasitée par le *Ph. infestans*, des oogones et des œufs, pourvus d'anthéridies et qu'il en avait obtenu un *Ph. infestans* conidifère, après les avoir soumis à la germination, DE BARY entreprit aussitôt la vérification de ce résultat. Il déclara que les organes qu'il a,

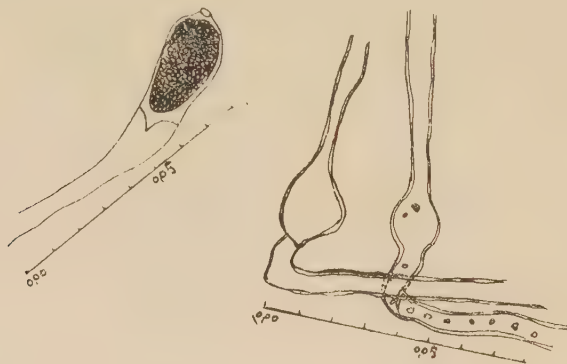


Fig. 18. — Cloisons dans un conidiophore vidé de son protoplasme (culture en cellule de VAN TIEGHEM).

lui aussi, trouvés, appartiennent les uns à un *Pythium*, les autres à un *Arctotrogus*. Les tissus dégradés étant ouverts à l'invasion des différents micro-organismes, il attribue ces corps aux champignons secondaires. Il dit avoir également trouvé ces corps dans des tissus, qui ne présentaient que des végétations de *Ph. infestans*.

M. CORNU [34], à son tour, entreprit une étude de ces corps sur un matériel, qui lui avait été fourni par le Rév. VIZE, de Montgomeryshire, et qui provenait de cultures de W.G. SMITH. A la suite d'une étude comparative, il conclut que ces corps appartiennent bien au *Pythium*, qui accompagne souvent le *Ph. infestans* parasitant la Pomme de terre, partageant ainsi l'opinion de DE BARY.

Quelques années plus tard, J. SMORAWSKI [187] déclara dans son exposé avoir rencontré, sur le tubercule parasité par le *Ph. infestans*, des conidiophores portant un corps chargé de globules de graisse entourés d'une mince

couche de périplasme et, qu'il considère comme un organe sexuel. L'abondance de graisses, déclare-t-il, ne permet pas de percevoir la pénétration du tube fécondateur dans l'oogone.

Ultérieurement de nombreux auteurs se sont occupés, presque exclusivement, des œufs en cultures pures. Ainsi le problème de l'apparition des œufs dans les conditions naturelles paraît être resté en suspens jusqu'aux travaux de J. ERIKSSON [57] de 1926. L'auteur donne bien des dessins de coupes de feuilles parasitées, représentant des corps logés dans les tissus qu'il considère comme des œufs de *Ph. infestans*, mais il nous est difficile



Fig. 19. — Différents stades d'évolution de divers corps de repos.

de les comparer avec ceux que nous avons constatés nous-mêmes, les photographures manquant un peu de netteté.

Si la coupe représentée sur la figure 20 ne nous permet pas de voir une relation intime avec le mycélium abondant dans la région voisine, mycélium appartenant indiscutablement au *Phytophthora infestans*, la présence exclusive de ce champignon et les modifications des hyphes conidifères, représentés sur la figure 21 *h*, *i*, obligent à admettre que le *Phytophthora*

infestans forme dans les conditions naturelles des corps de conservation, autres que les conidies, et qui dérivent de la forme conidienne ou présentent de grandes connexions morphologiques avec elles et les œufs. Ils n'ont d'ailleurs aucune identité morphologique avec les œufs de *Pythium* ni avec ceux d'*Artotrogus* figurés par DE BARY [2].

Après avoir décrit les modifications morphologiques et cytoplasmiques que le parasite subit sous l'influence du milieu synthétique, riche en substances inorganiques, nous allons décrire l'effet de la solution glucosée à 3 %.



Fig. 20. — Œuf trouvé dans le tissu lacuneux d'une feuille mildiouée.

GERMINATION. — Ces observations ont été faites au mois de mars en goutte pendante en cellule de VAN TIEGHEM,ensemencée avec un prélèvement de culture sur tubercule et sur de la gomme arabique. Cette dernière a été particulièrement abondante en conidies.

Les cellules de VAN TIEGHEM ont été maintenues dans les conditions de laboratoire, à une température variant entre 15° et 20° C.

Le premier examen fait le lendemain de l'ensemencement ne nous a révélé aucune modification notable de la culture.

L'insolation de l'emplacement de ces cellules nous ayant paru trop intense, nous en avons placé une partie sous une cloche recouverte de papier bleu, et le reste demeurant dans leurs conditions initiales.

Le troisième jour, nous avons remarqué que la plupart des cultures abritées contenaient des conidies vidées de leur protoplasme fragmenté en

plusieurs parties sphériques, dont presque toutes se trouvaient en état de germination.

Les spores, ainsi qu'il en résulte d'observations faites sur de nombreuses cultures, étaient toutes sans cils.

Les cultures non abritées contre la lumière germaient à leur tour quelques jours plus tard.

Dans quelques cas, une partie de ces spores restait dans la conidie, et l'expulsion se fit à des intervalles plus ou moins longs.



Fig. 21. — Modifications des conidies trouvées à la surface d'une feuille parasitée.

Nous n'avons pu observer ni le sort de l'opercule de la conidie, ni le moment critique du passage de ces spores à travers l'ouverture papillaire, qui avait un diamètre de beaucoup inférieur à celui des spores.

Ces sphérules protoplasmiques entraient incessamment en germination. Durant l'allongement du tube germinatif, le protoplasme abandonnait l'organe et s'acheminait vers l'extrémité du tube germinatif, où il se condensait plus fortement que dans la partie basale. La quantité du protoplasme n'augmentait pas proportionnellement à la croissance du thalle; ce dernier se séparait de la spore et de parties vides par des cloisonnements successifs à mesure qu'il s'éloignait.

Les cloisons apparaissent à intervalles assez rapprochés, et l'on en voit

quelquefois deux, dans un thalle relativement court; chaque partie basale du thalle séparée par une cloison est vidée de son protoplasme (fig. 22).

Les spores ne germent pas seulement en un seul point de la périphérie, elles peuvent émettre même plusieurs tubes germinatifs (fig. 22, 23 i), qui se ramifient quelquefois immédiatement, ou après une courte croissance. Ils tendent à produire à leur tour des organes de conservation, qui sans s'individualiser, germent aussitôt en un filament, et celui-ci se renfle également à son extrémité, se séparant, ou non, ensuite de la partie vidée de protoplasme (fig. 24).

En général, les spores quittent leur enveloppe conidienne, mais nous avons observé des cas où seulement une partie de spores sortent de la conidiomère, et l'autre partie germant à l'intérieur (fig. 24 e, 25, 26, 27). Leurs

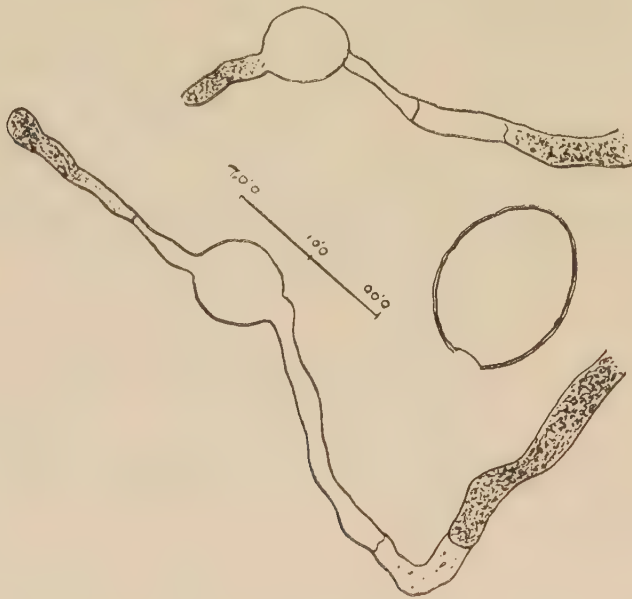


Fig. 22. — Spores en germination, avec tubes germinatifs cloisonnés.

tubes germinatifs sortent, soit par l'extrémité basale, soit par l'extrémité papillaire, ou même simultanément par ces deux points.

Il arrive aussi que, seulement, une partie du contenu protoplasmique de la conidie se différencie en spores, et que l'autre germe directement dans la conidie, ou se fragmentant en petites portions, qui sont expulsées ou non de la conidie; ces fractions protoplasmiques sont animées d'un mouvement brownien très actif (fig. 25, 26 c).

Les spores, bien qu'individualisées, ne quittent pas toutes la conidie : les unes germent à l'intérieur, d'autres, en dehors d'elle (fig. 24 e et 27).

cules avec de petits granules plus chromophiles, correspondant aux cytosomes (fig. 26 c, 27).

Dans un tube germinatif intraconidial à croissance très active, certaines substances prennent le bleu d'indophénol comme des graisses.

En examinant une de ces cultures en solution glucosée en cellule de VAN TIEGHEM, après environ quatre mois, nous y avons trouvé des modifications très nombreuses : le mycélium très développé né d'une spore présente des ramifications de forme identique à celles que l'on trouve dans les tissus parasités par le *Ph. infestans*. Les corps de conservation, nettement



Fig. 24. — Germination des spores : d) conidie au repos, e) germination intraconidiale, f) et g) germination des spores tendant à former des corps de repos, qui germent à leur tour (culture en cellules de VAN TIEGHEM).

individualisés et de dimensions différentes, sont de forme presque conidienne, mais ils sont dépourvus de papille. Le protoplasme de quelques conidies s'est fragmenté en petites particules animées de mouvements browniens, les unes sont expulsées de la conidie, les autres se trouvent à l'intérieur de celle-ci (fig. 28 a, b, c).

Il serait intéressant de connaître le rôle de ces particules protoplasmiques dont l'observation n'a pu être continuée, la culture ayant été envahie par des bactéries en forme de bâtonnets.

Il est vraisemblable que le *Phytophthora infestans* subit également

dans les conditions naturelles, variant dans de grandes limites, quelques modifications qui l'écartent des formes généralement connues.

Rapports du parasite avec quelques variétés de Pommes de terre au point de vue de la résistance

HISTORIQUE. — Des observations et des expériences nombreuses faites par plusieurs auteurs, en pleine culture et au laboratoire, il résulte que différentes variétés de pomme de terre résistent à différents degrés aux attaques du *Phytophthora infestans*.

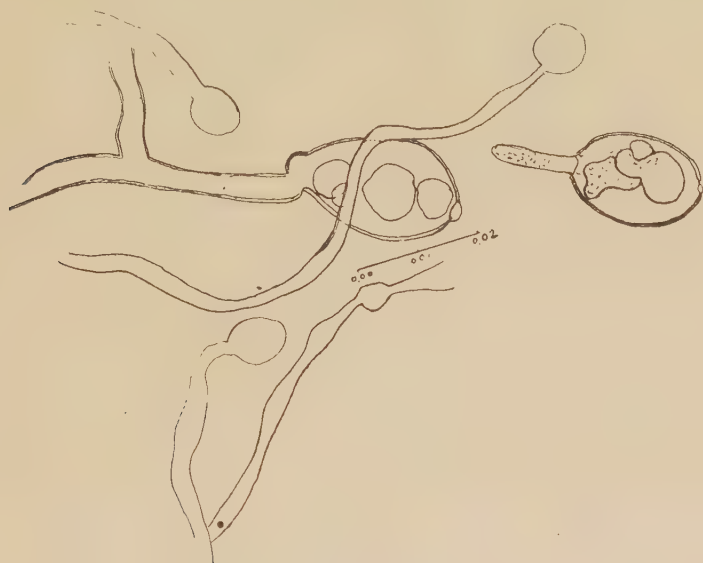


Fig. 25. — Conidie à contenu différencié en spores, les unes expulsées, les autres germent à l'intérieur de la conidie.

Les plantes jeunes sont considérées comme plus résistantes que les plantes en plein développement.

La différence de résistance se manifeste aussi bien dans les organes aériens que dans les tubercules.

On a remarqué qu'il y a des époques où seulement les feuilles sont atteintes; d'autres où ce sont les tiges ou, encore, les feuilles et les tiges en même temps, et que malgré une abondance du parasite sur les organes aériens, les tubercules restent indemnes.

Les cas où les tubercules seuls sont atteints, sans que le parasite apparaisse sur les organes aériens ne doivent pas manquer non plus.

Il est aussi connu que les terres fortes sont plus favorables à l'invasion du parasite que les terres légères, et que les facteurs météorologiques jouent un rôle considérable.

L.R. JONES [82] a essayé d'exprimer la différence de résistance au moyen de graphiques en fonction du délai dans lequel l'infection d'une

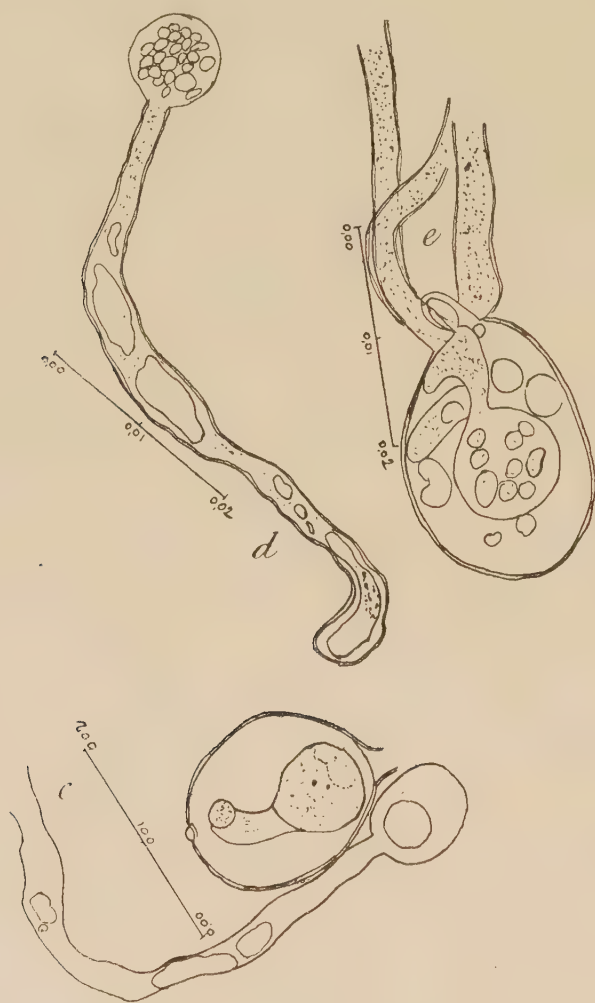


Fig. 26. — Germination des spores : c) spore germant à l'intérieur de la conidie, d) spore avec tube germinatif très vacuolisé, e) spores germant à l'intérieur de la conidie dont une partie du protoplasme germe directement.

variété de pomme de terre se réalise, et du pourcentage de la surface des feuilles atteintes. Il en conclut que ce parasite se développe mieux sur les feuilles de certaines variétés que sur d'autres.

De même, en plaçant les tubercules de différentes variétés dans le

même milieu de terre infecté, il remarque que le pourcentage de tubercules atteints varie selon la variété.

D'après cet auteur les variétés à tiges rugueuses et lignifiées et à tubercules riches en amidon sont plus résistantes, la résistance des feuilles est, à son avis, liée plus au mésophylle qu'à l'épiderme.

M^{lle} M.B. LOHNIS [103] attribue d'une part la résistance à la fréquence de stomates de la feuille et de lenticelles du tubercule, d'autre part à la propriété de subérification des lésions mécaniques, différente selon la variété.

P. SORAUER [189], constate que les variétés à chair blanche, qui, d'après PETERMANN, contiennent moins de protéines, sont plus résistantes que celles à chair jaune. Le périderme plus épais des tubercules rouges doit constituer un obstacle notable à l'invasion du parasite.



Fig. 27. — Germination intra-conidiale des spores, les tubes germinatifs sortent par la papille et par la base de la conidie.

G.H. PETHYBRIDGE [145] estime que les plantes ayant atteint un certain degré de développement sont plus résistantes que des plantes jeunes.

V. DUCOMET considère que les facteurs météorologiques jouent un rôle prépondérant dans la résistance au mildiou.

M^{lle} DE BRUJIN [18] pense qu'à côté des conditions atmosphériques, c'est la composition chimique de la plante elle-même, qui domine dans la question de la résistance des Pommes de terre au *Phytophthora infestans*.

PARTIE EXPERIMENTALE. — Pour nos expériences, nous disposions de quelques variétés dont la différence de résistance est considérée comme

bien définie ; ainsi d'après l'ordre de degré de résistance, ces quelques variétés se classeraient comme suit :

Variété « Bravo »	Très résistante.
— « Favoriet »	
— « Shamrock »	
— « Irish Chiefton »	
— « Rouge du Soissonnais » ..	
— « Early Rose »	
— « Eigenheimer »	Très sensible.

Comme nous l'avons déjà dit dans la partie consacrée à la description

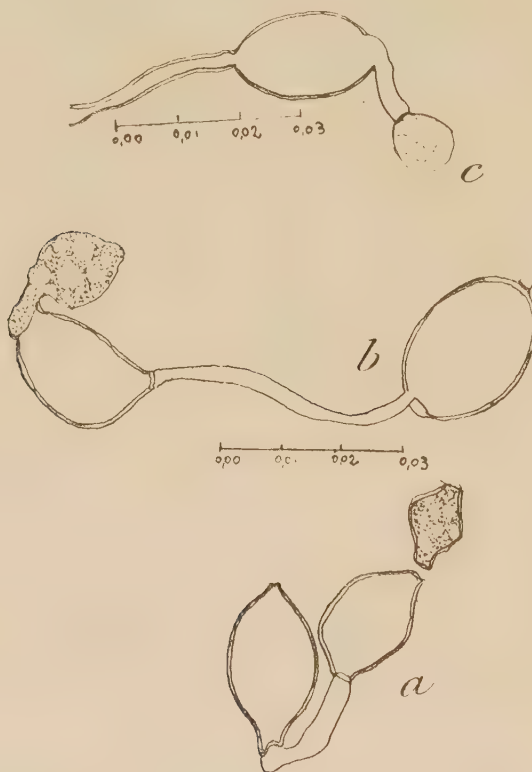


Fig. 28. — Sporangies en germination directe : en a) et b) formation de nouveaux sporangies de moins en moins différenciés, en c) formation de spores au bout du tube germinatif.

des cultures du parasite, les repiquages sur les morceaux de tubercules de la variété « Bravo » ne nous ont donné aucun développement du *Phytophthora infestans*. Cependant les repiquages sur les morceaux de tubercules des variétés « Rouge du Soissonnais » ou « Saucisse Rouge » ont toujours réussi, de même que sur la variété « Eigenheimer » ; néanmoins, les cultures sur les morceaux de tubercules de cette dernière variété n'étaient pas durables car la plupart d'entre elles étaient toujours envahies par des bactéries

Nos expériences d'infection des tubercules entiers ont été effectuées de deux manières : par voie *directe*, c'est-à-dire par apposition du parasite sur le tubercule, et par voie *indirecte*, c'est-à-dire par infection locale de la terre dans laquelle nous avons planté des tubercules entiers.

Dans chaque cas, chacun des tubercules a été stérilisé après lavage à l'eau, d'abord à l'alcool à 90° pendant 15 minutes, et ensuite par le bichlorure de mercure à 1:1.000, également pendant 15 minutes; cette dernière opération a été effectuée sous la trompe à eau, pour expulser les bulles d'air qui auraient pu gêner une stérilisation satisfaisante.

Les tubercules furent de nouveau lavés à l'eau stérile, dans des récipients stérilisés.

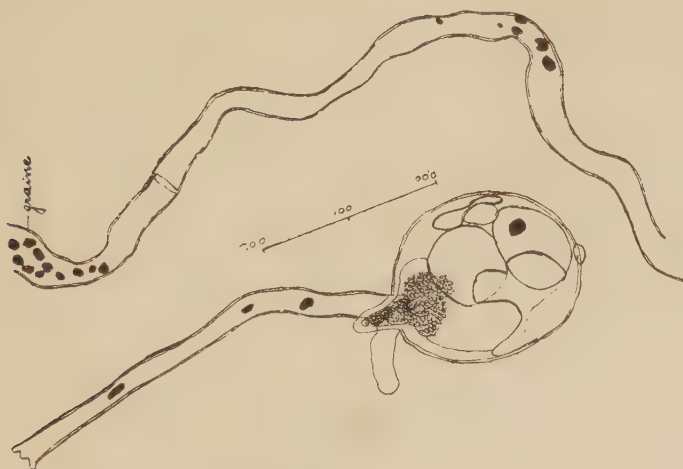


Fig. 29. — Conidie, dont une partie du protoplasme s'est constituée en spores germant à l'intérieur de la conidie, et dont une partie germe directement.

On aurait pu craindre qu'une stérilisation aussi brutale ne pût entraver la germination de ces tubercules. Bien que les lenticelles et les germes déjà apparus fussent corrodés par ce procédé, à côté de ces derniers, ne tardaient pas, après quelques jours, à se développer de nouveaux germes.

Une partie de ces tubercules stérilisés fut placée dans de gros tubes à essais fermés (un tubercule par tube), préalablement stérilisés et munis d'un dispositif d'aération.

Pour cette expérience ont été choisies les variétés suivantes : « Favoriet », « Shamrock », « Irish Chiefton », et « Saucisse Rouge ».

INFECTION DIRECTE. — L'infection de ces tubercules fut effectuée par apposition d'un petit fragment de culture du parasite au voisinage des yeux.

Les tubes furent gardés dans la terre, enfouis à moitié, de manière que les tubercules s'y trouvaient à l'abri de la lumière ; le tout fut recouvert d'une cloche.

Au bout de trois jours, nous avons trouvé que le champignon s'est introduit dans le bourgeon du tubercule de la variété « Shamrock ». Les autres tubercules ne tardèrent pas à être envahis aussi, dans l'ordre suivant : « Irish Chiefton », « Saucisse rouge », « Favoriet ».

Malgré les précautions que nous avons prises, les tubercules verdirent bientôt, ce qui a, vraisemblablement, empêché la progression du parasite ; les bourgeons atteints se détachèrent. Ces tubercules, à mesure qu'ils verdissaient, se couvraient de petites tubérosités.

A l'examen, après quatre mois, ces tubercules ont été découpés mais ils ne révélaient pas de présence du parasite. Quelques-uns ont été envahis par des hyphomycètes, peu de temps après leur mise en expérience.

Les coupes effectuées dans le bourgeon bruni du tubercule de la variété « Shamrock » ont montré, à l'examen microscopique, une abondance du mycélium dans les lacunes et les interstices du tissu dissocié.

Ce mycélium paraît ne pas être muni de suçoirs. L'absence de ceux-ci pourrait s'expliquer par la faible résistance, qu'un aussi jeune tissu peut opposer au parasite.

Sous l'action du bleu d'indophénol, nous avons vu apparaître dans le mycélium, ainsi que dans les cellules voisines, des plages colorées en bleu, qui, de ce fait, paraissent être de nature grasse (Pl. II, 12, 13).

L'autre série d'expériences d'infection fut exécutée de manière suivante : les tubercules des variétés « Bravo », « Early Rose », « Rouge du Soissonnais » et « Eigenheimer », stérilisés préalablement par le procédé déjà décrit, ont été placés séparément, dans des enveloppes de papier buvard stérilisé, plongés dans du sphagnum en pots. Le tout arrosé avec de l'eau stérile fut maintenu dans la serre, où la température atteignait quelquefois, pendant la journée, 28° C. La température d'ambiance immédiate du tubercule fut vraisemblablement supérieure de quelques degrés et variait moins à cause de l'isolement par le sphagnum.

Sur chacun de ces tubercules fut déposé un morceau de culture du *Phytophthora infestans* sur tubercule.

Ces tubercules furent examinés trois jours plus tard, nous avons constaté qu'aucun d'eux n'avait résisté au parasite. Ceux des variétés « Eigenheimer » et « Early Rose » présentaient outre les attaques des bourgeons, brunis de ce fait, des taches brunâtres sur toute leur surface, ceux de la variété « Rouge du Soissonnais » ne présentaient que des attaques de bourgeons, et

seulement quelques taches brunâtres du périclerme. Les tubercules de la variété « Bravo » ne firent voir que des infections nombreuses des bourgeons.

Les bourgeons très jeunes, infectés par le parasite, se détachaient le plus souvent de leur tubercule.

L'infection des tubercules des variétés « Early Rose » et « Eigenheimer » nous semble s'être réalisée, non seulement par la voie du bourgeon, mais aussi par la voie des lenticelles, à cause de la présence de nombreuses taches brunâtres, disposées sur toute la surface du tubercule, même autour des bourgeons indemnes, bien que les essais d'infection des tubercules, par les lenticelles, aient échoué.

Afin d'obtenir une infection par les lenticelles, nous avons enrobé une grande partie du tubercule, et surtout les yeux, soit dans la paraffine, soit dans la vaseline; de telle manière que toute infection par la voie des yeux fut rendue impossible, mais toutes nos tentatives sont restées infructueuses.

Les tubercules infectés avaient été maintenus dans ces mêmes conditions du mois de mars au mois de juillet. Pendant ce temps, le parasite continuait de se développer sur ces tubercules, donnant des fructifications très abondantes, s'attaquant aux bourgeons et aux racines, qui, tout en étant couverts de taches brunes et du mycélium ne cessaient pas de se développer. Quelques lésions atteignirent les tiges, mais les feuilles restèrent intactes.

Un bourgeon jeune, étiolé, succombe toujours à l'attaque.

Quelques bourgeons à développement plus avancé ne portaient que des lésions locales, dont les unes s'étendaient, les autres se desséchaient, sans que l'organe cessât de croître.

Les tubercules des variétés « Early Rose » et « Eigenheimer » ont été finalement envahis par des bactéries, et ont subi une décomposition laiteuse.

Les tubercules de la variété « Bravo » n'ont subi aucun brunissement de leur périclerme et ont donné, comme ceux de la variété « Rouge du Soissonnais » dont le périclerme présentait çà et là quelques taches brunâtres, des organes aériens à feuilles indemnes.

Ils ont été plantés au mois de juillet en pleine terre. Les deux pieds étaient très chétifs durant toute la végétation et l'on trouvait de petits foyers du *Ph. infestans* aussi bien sur les feuilles que sur les tiges. Vers mi-septembre, nous n'avons trouvé au pied de la variété « Rouge du Soissonnais » que le tubercule-mère en putréfaction, et au pied de la variété « Bravo » quelques petits tubercules, dont l'un d'eux trahissait par quelques taches brunâtres la présence du parasite, que nous avons bien constaté à l'examen microscopique. Le tubercule-mère de cette dernière variété se trouvait entier, mais à l'état spongieux, privé de réserves.

Revenant encore sur l'infection du tubercule de la variété « Bravo », il nous reste à dire que le brunissement du bourgeon s'arrête presque au niveau de son insertion.

Dans une coupe de bourgeon fixé au Flemming faible, nous constatons que le mycélium est chargé de graisses, et que, malgré la dissociation du tissu, les cellules avoisinantes ne présentent pas d'altérations profondes : les noyaux paraissent être intacts. Il est probable que nous nous trouvions en présence d'une région qui, bien que déjà atteinte, n'était pas encore lésée par des agents secondaires; d'ailleurs le tubercule, ainsi que les jeunes bourgeons, se trouvaient abrités contre la dessiccation (Pl. III, 2).

L'action anodine du parasite se traduisant par une histolyse est également visible dans la coupe du stolon parasité (Pl. III, 3); celui-ci ayant été fixé au Regaud nous apparaît exempt de graisses et présente de nombreuses vacuoles et des cytosomes granuleux, régulièrement disposés sur les trabecules protoplasmiques. Les cellules avoisinantes ne révèlent aucune altération notable.

Si l'infection des tubercules bien développés, par une autre voie que celle des yeux n'a pas réussi, elle a pu être réalisée sur les tubercules très jeunes d'une variété indéterminée.

Sans détacher le petit tubercule de son stolon nous avons déposé sur lui le parasite, qui ne tarda pas à s'y développer activement; au bout de deux à trois jours le tubercule était couvert de taches brunâtres. Poursuivant nos investigations nous avons trouvé le mycélium même dans le stolon reliant ce jeune tubercule au tubercule-mère. La coupe fut traitée par le mélange de GUÉGUEN, le mycélium révélait une abondance de graisses colorées par le Soudan III, et ayant rompu la membrane cellulaire, pénètre dans la cellule elle-même, pour l'abandonner aussitôt, c'est-à-dire, qu'après avoir transpercé la cellule (Pl. II, 4, 5), il continue son action de dissociation des tissus de l'hôte.

D'autre part, tout en profitant de cette dernière expérience, nous avons repris notre essai précédent en infectant un jeune tubercule par une autre voie que celle des yeux; celui-ci, détaché, fut enduit de paraffine au voisinage où l'on prévoyait des yeux; le parasite fut déposé sur la partie nue.

Après quelques jours nous avons aperçu que ce jeune tubercule était effectivement contaminé à travers l'épiderme.

INFECTION INDIRECTE. — Les essais d'infection indirecte, c'est-à-dire par contamination du milieu, consistait en ce que nous avons planté des tubercules aseptiquement dans des pots contenant trois espèces de terres différentes.

La terre employée provenait :

- a) d'un terrain léger, sablonneux,
- b) d'un terrain moyen, argilo-sablonneux,
- c) d'un terrain fort, argileux.

Les tubercules plantés appartenaient aux variétés suivantes : « Bravo », « Shamrock », « Saucisse rouge » et « Eigenheimer ».

Chacune des variétés fut plantée dans ces trois espèces de terre, à raison d'un tubercule par pot.

Les pots, dont certains furent contaminés expérimentalement en enfouissant un morceau de culture du *Ph. infestans* sur pomme de terre, à une profondeur d'environ 4 cm. et hors contact avec les tubercules plantés, séjournèrent de mai à mi-septembre dans le jardin de la Station, enterrés jusqu'à 5 cm. du bord. Il convient de remarquer que l'état de la terre du jardin nous était inconnu.

Dans deux pots contaminés, contenant la variété « Bravo », et placés au bord du sentier, les organes aériens furent totalement envahis par le *Ph. infestans*. L'envahissement se manifesta dès le début du développement de la plante. A l'examen des tiges, nous trouvions des traces de mycélium à différentes hauteurs. Les tubercules étaient très petits, et quelques-uns d'entre eux trahissaient l'attaque du parasite. Dans un autre pot, qui ne fut pas contaminé, les organes aériens étaient presque indemnes et les tubercules tout à fait sains.

La variété « Shamrock » présentait seulement une attaque prononcée des tiges et des feuilles en pots infectés, et resta tout à fait indemne, en pots non contaminés.

Les pieds de la variété « Saucisse Rouge » ont subi indifféremment une infection des organes aériens ou des tubercules en pots non contaminés.

Les pieds de la variété « Eigenheimer » ont subi une attaque des organes aériens et des tubercules en pots contaminés; dans les pots non contaminés, un pied subit une infection générale et l'autre pied seulement une infection de tubercule.

Il convient de préciser que les pots se trouvèrent à une distance d'environ 50 cm. l'un de l'autre, distance relativement trop faible pour qu'une infection naturelle ait pu être envisagée comme exclue.

Tous les pieds plantés dans la terre forte ont été attaqués aux tubercules et aux organes aériens, tandis que seulement quelques pieds furent attaqués aussi bien en terre légère qu'en terre moyenne.

Au bout de quelques jours, nous avons observé des tubercules déterrés et avons remarqué que quelques-uns de ceux-ci se couvraient de végétations

de *Phytophthora infestans*; les conidiophores émergeaient en touffes à travers les lenticelles.

Des tubercules de ces mêmes variétés, sans être stérilisés, furent plantés dans des conditions naturelles à côté d'un grand champ de pommes de terre qui a été fortement atteint par le parasite durant la végétation. Les organes aériens luxuriants des variétés « Early rose » et « Eigenheimer », bien que très atteints par le parasite, résistèrent plus longtemps que ceux des autres variétés. Les organes aériens des variétés « Bravo », « Shamrock », « Rouge du Soissonnais » et « Saucisse Rouge » périrent bien avant les deux premières. Leurs parties aériennes furent moins vigoureuses. Cependant les tubercules d'aucune de ces variétés n'ont pas été attaqués par le parasite.

De ces expériences, si incomplètes qu'elles soient, puisqu'elles s'étenaient sur un nombre de répétitions relativement restreint, nous pouvons, toutefois, déduire que différentes variétés se comportent différemment à l'attaque du *Phytophthora infestans*; qu'il y a des variétés plus sensibles que d'autres. La différence est moins accentuée lorsqu'il s'agit d'organes aériens et de tubercules jeunes que lorsqu'il s'agit de tubercules développés. Il nous semble aussi que les terres fortes favorisent l'évolution du parasite.

Les tubercules de la variété « Bravo » sont plus résistants à ce champignon que tous les autres, notamment ceux de la variété « Eigenheimer ».

RECHERCHE DE FACTEURS DE LA RESISTANCE. — Nous étant ainsi aperçus de la différence de résistance entre ces variétés, nous avons essayé de rechercher en quoi elle pourrait consister.

Quelques tubercules de plusieurs variétés qui ont été laissés au laboratoire, sans qu'on ait pris des soins de conservation quelconque, présentèrent des aspects tout différents.

Certains sont devenus flasques, d'autres, quoique ridés, sont restés fermes, d'autres encore n'ont pas subi la moindre altération perceptible extérieurement.

Les tubercules n'ayant éprouvé aucune altération ou devenus à peine ridés, mais restés fermes, appartiennent à la variété « Bravo ». Les tubercules devenus flasques sont ceux des variétés telles que « Early Rose », « Fin de Siècle » et « Eigenheimer »; les ridés, mais restés fermes, appartenaient aux variétés plutôt résistantes comme « Shamrock » et « Rouge du Soissonnais ».

Ayant établi cette classification, nous avons procédé à l'examen de plus près.

Les tubercules ridés et fermes, coupés en deux, portent des taches noirâtres dans le parenchyme. Ces taches ne furent pas observées dans aucun

des tubercules flasques, c'est-à-dire appartenant aux variétés sensibles. La présence de ces taches nous a suggéré l'idée d'examiner la localisation des substances oxydables. Les réactifs employés sont les suivants :

- 1° teinture de Gaïac en solution alcoolique 100°;
- 2° — — — — — additionnée de $H_2 O_2$;
- 3° benzidine en solution alcoolique 75°.

Les coupes faites au rasoir, traitées soit par la teinture de Gaïac seule soit par la teinture de Gaïac additionnée de quelques gouttes d'eau oxygénée, soit par la benzidine viraient au vert-bleu, même au bleu-noir, avec vitesse et intensité variant selon la provenance de la coupe.



Fig. 30. — Scléride dans le parenchyme du tubercule d'une variété résistante « Bravo ».

La coloration était nette lorsque nous employions la teinture de Gaïac seule, plus intense si nous ajoutions de l'eau oxygénée. La coloration apparaissait aussi lorsque nous traitions ces coupes par la benzidine.

Une même coupe traitée successivement par les trois réactifs se colorait presque en noir.

Le temps du virage varie beaucoup et peut durer jusqu'à 15 minutes pour obtenir une coloration homogène vue à l'œil nu ; cette variation de durée ne dépend pas seulement de l'épaisseur de la coupe, mais aussi de la

perméabilité de la membrane cellulaire et de la localisation de substances sensibles à ces réactifs.

Ces réactifs étant caractéristiques des oxydases et des peroxydases, il nous faut admettre que toutes les deux se trouvent mélangées les unes avec les autres.

Observées au microscope, les coupes provenant de tubercules résistants se coloraient d'abord et d'une manière très intense et homogène dans la région de la lamelle moyenne, qui, y étant plus épaisse que dans le tissu des tubercules sensibles, se colore en bleu foncé, presque en noir. La coloration s'étend ensuite progressivement sur le contenu cellulaire lui-même, où l'on voit apparaître au fort grossissement des taches colorées en rouge, rose, violet, vert et bleu des nuances très variées.

Les coupes de tubercules sensibles se colorent relativement plus vite. La coloration dans la cellule apparaît presque simultanément avec le virage dans la lamelle moyenne. La coloration de cette dernière est aussi homogène, comme dans une coupe d'un tubercule de variété résistante. On constate la même gamme de teinte dans la cellule (1).

Les coupes de tubercules jeunes se comportent identiquement, comme celles de tubercules des variétés sensibles.

En examinant ces différentes coupes nous étions frappés par la variation de l'épaisseur de la membrane des cellules parenchymateuses et de leurs lamelles moyennes, suivant la variété de pommes de terre, et par la fréquence des cellules en état de sclérification (fig. 30).

Si le rapport de la fréquence de cellules sclérifiées, que nous désignons, d'après R. CHODAT, par le nom de scléréides, avec la résistance est difficile à établir, la différence d'épaisseur de la membrane des cellules parenchymateuses et de la lamelle moyenne, peut cependant être considérée comme directement proportionnelle à la résistance, car, en effet, plus une variété de pomme de terre est résistante, plus épaisses sont les membranes cellulaires du parenchyme et les lamelles moyennes (fig. 31 *a*, *b*).

Pour avoir plus de certitude de cette relation, nous avons préparé un grand nombre de coupes des tubercules appartenant à différentes variétés.

(1). Les oxydases et les peroxydases dans les tubercules de pomme de terre furent étudiées par J. GRUSS (63). Cet auteur chercha à établir une relation entre la suberification des tissus et le rôle de diastases (oxydases, peroxydases et antioxydases). Pour ce but il se servit, outre de la teinture de Gaïac, additionnée ou non de H_2O_2 , d'une solution de tétradiméthylparaphénylendiamine et de l'uroltartrate. Les coupes de tubercules furent traitées préalablement par l'alcool éthylique de différents degrés, mais de préférence de 78°, pendant une heure à chaud ou à froid, afin de séparer les différentes diastases par la destruction des unes et la mise en évidence des autres.

A l'examen microscopique de ces préparations, prises au hasard, c'est-à-dire sans connaître leur provenance, il nous était possible de déclarer, à coup sûr, laquelle d'entre elles provenait d'un tubercule de variété résistante, et laquelle d'un tubercule de variété sensible. Après quelque entraînement nous avons même presque réussi à déterminer microscopiquement les différentes variétés étudiées, en petit nombre il est vrai.

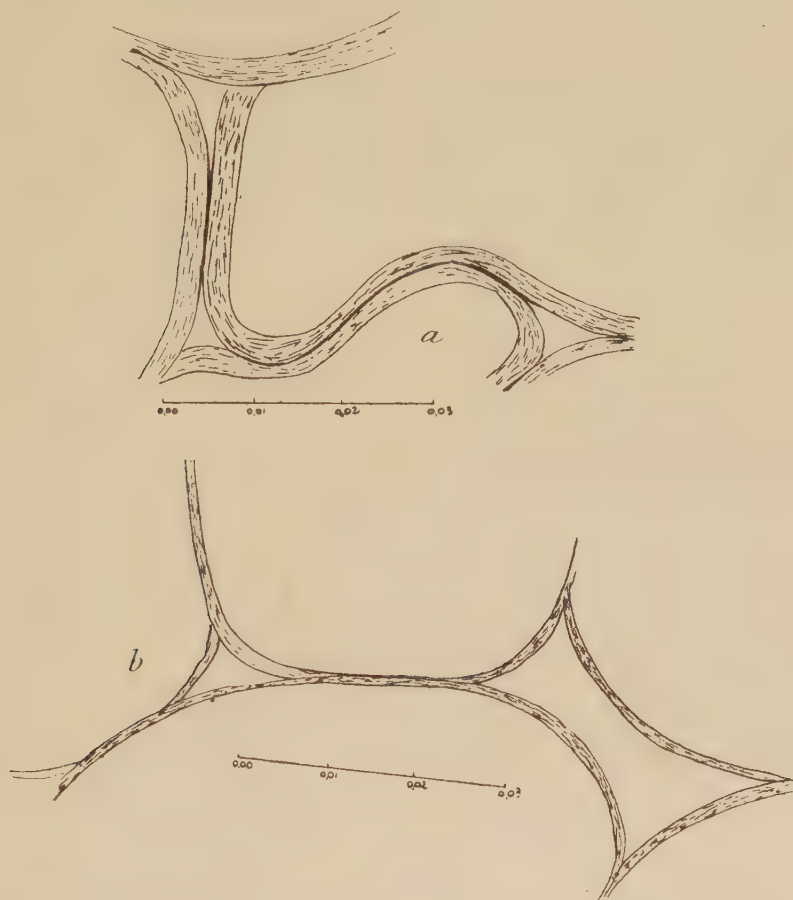


Fig. 31. — Cellules à membrane d'épaisseur différente, dans le parenchyme du tubercule : a) d'une variété résistante, b) d'une variété sensible.

Toutefois la variété « Shamrock » considérée comme seconde dans l'échelle de la résistance, nous induisait toujours, et elle uniquement, en erreur. Il est possible que ces tubercules ne fussent pas ceux de cette variété, mais ne disposant plus du même matériel, nous ne pûmes plus étudier cette exception.

Il résulte de cette différence de l'épaisseur de la membrane et de la lamelle moyenne que la variété la plus résistante, dont nous disposions, est la « Bravo », et la plus sensible la variété « Eigenheimer ». Les variétés

« Rouge du Soissonnais » et « Irish Chiefton » seraient à classer après la variété « Bravo ». Les variétés « Early Rose » et « Fin de Siècle » graviteraient autour de la variété « Eigenheimer », tout en devant être plus résistantes que celle-ci.

Résumé et Conclusions générales

De notre étude de la structure morphologique du mycélium du *Phytophthora infestans* à l'intérieur de la plante de pomme de terre, il résulte que la forme du mycélium ne varie pas d'organe à organe, elle est identique, que le mycélium se trouve soit dans le tubercule, soit dans la tige, soit dans la feuille, soit encore dans le fruit. Il est large, lobé, et même palmé, et ne possède de cloisons que dans le cas où il se vide progressivement de son protoplasme.

Le mycélium est pourvu de nombreux suçoirs de formes variables (claviforme, cunéiforme, filiforme, spiraliforme), quelquefois doubles, à membrane épaisse et à canal étroit.

Les suçoirs paraissent être moins abondants si le tissu parasité n'oppose pas au mycélium une résistance trop grande, et peuvent faire défaut, lorsque le mycélium se trouve dans un tissu jeune comme celui du bourgeon.

Si la membrane cellulaire est peu résistante, le mycélium lui-même s'introduit dans la cellule, tel est le cas dans le fruit ou dans les ailes de tiges parasitées.

Les suçoirs ayant une membrane plus épaisse que celle du mycélium afférent ne semblent pas, par ce fait, lui servir essentiellement d'organe d'adduction de matières nutritives. Leur rôle principal semble se réduire à celui de crampons, qui, en s'introduisant par les perforations existant dans la membrane cellulaire, et qui sont les mêmes que celles à travers lesquelles s'effectuent la communication protoplasmique, facilitent au mycélium la dissociation des tissus. Quelquefois ces suçoirs ne forment qu'une invagination de la membrane cellulaire.

Les orifices à travers lesquels les suçoirs ont pénétré dans la cellule ont généralement un bord épaissi; cet épaississement se présente sous forme d'un bourrelet cicatriciel.

Le méfait de la présence du mycélium se traduit par une histolyse des tissus parasités, qui par suite deviennent accessibles aux agents secondaires de nature physique, chimique, ou même microbienne. Plus l'organe est consistant, moins vite se manifeste l'influence du parasite. Les tubercules peuvent avoir hébergé le parasite sans préjudice notable, dans la région plus

profonde du parenchyme, si les bactéries ne succédaient pas de près au mycélium; ces bactéries paraissent s'attaquer surtout aux tubercules de variétés très sensibles.

Les tissus de feuilles, des tiges ou des baies subissent principalement l'action des agents physiques desséchant les tissus, dont l'unité physiologique est rompue par la dissociation, et déterminant des modifications chimiques.

L'altération des cellules isolées se manifeste par la destruction de chloroplastes, qui libèrent, de ce fait, les ébauches amylacées s'agglutinant; elle est accompagnée de l'apparition de tannins et de graisses.

Ces graisses apparaissent aussi dans le mycélium lui-même. Il est difficile d'admettre que le mycélium les puise dans les cellules de l'hôte, les graisses étant d'une composition trop complexe et le parasite se développant très bien dans un milieu à base de monosaccharide, tel que le glucose.

Les observations du parasite en milieux divers montrent qu'il est susceptible de modifications morphologiques très profondes.

Ces modifications sont les plus frappantes lorsque le milieu est riche en substances inorganiques.

Le parasite ne tarde pas à former différents corps de conservation, qui paraissent avoir tous, plus ou moins, la forme conidienne pour base. Ces corps sans subir une fragmentation de leur protoplasme en spores, peuvent germer à leur tour directement.

C'est dans ce milieu concentré en substances inorganiques qu'on rencontre la forme d'oogone et d'œuf; ces dernières formes peuvent se trouver, de ce fait, dans les cultures pures et apparaissent aussi dans la nature, dans les tissus parasités et même dans la terre.

Les œufs peuvent être sexués ou parthénogénétiques.

Les œufs sexués paraissent naître lorsque la concentration du milieu en substances inorganiques n'est pas trop accentuée et la modification du milieu se déroule progressivement.

La plupart de ces œufs sont accompagnés d'une anthéridie, qui naît à à leur base, au cours de la différenciation du thalle en oogone.

Si la relation de l'anthéridie avec l'œuf n'a pas été jusqu'à présent connue, c'est probablement par suite de l'abondance de graisses; il est cependant certain qu'il pénètre dans l'oogone par l'intermédiaire d'un tube, qui se renfle à son extrémité, une fois qu'il se trouve à l'intérieur de l'oogone. Il y a une analogie avec ce qu'on rencontre chez d'autres Péronosporées; bien que nous n'ayons pas étudié cytologiquement sa fonction, il convient de lui attribuer le rôle fécondateur.

Les œufs parthénogénétiques paraissent se former lorsque la concentration des substances inorganiques est plus forte et que le milieu se modifie brusquement. C'est à cette circonstance que nous attribuons l'apparition des œufs sans anthéridie dans la terre, et dans les tissus parasités et à la surface de ceux-ci. Dans ce dernier cas les œufs paraissent être formés à partir de la conidie déjà différenciée.

Si toutes les variétés de pommes de terre que nous avons étudiées peuvent être attaquées par le *Phytophthora infestans*, aux organes aériens et aux jeunes tubercules, la différence de résistance entre ces variétés est cependant manifeste, lorsqu'il s'agit de tubercules complètement développés.

Nous attribuons cette différence de résistance surtout à la structure anatomique du tissu, notamment à sa relation étroite avec l'épaisseur de la membrane des cellules parenchymateuses et des lamelles moyennes ; elle paraît, de ce fait, être implicitement liée à la différence de la composition chimique. Néanmoins, il ne faut pas oublier qu'elle peut aussi résulter de l'interaction de différents facteurs internes et externes, ainsi que du parasite, lui-même sensible aux variations du milieu.

N.-B. — Notre mémoire ayant été déjà remis à l'impression, nous prîmes connaissance de deux notes de : P.-A. MURPHY : The production of the resting-spores of *Phytophthora infestans* on potato tubers (*The Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society*, vol. XVIII (N. S.), Nr. 34, may 31, 1927) et P.A. MURPHY and R.M. KAY : Some further cases of the production of diseased shoots by potato tubers attacked by *Phytophthora infestans*, and a demonstration of alternative sources of foliage and tuber infection. (*The Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society*, vol. XVIII (N. S.), June I, 1927). Nous apprenons que leurs observations confirment à un certain point de vue les nôtres.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ATKINS, W.R.G. : Oxydases and their inhibitors in plant tissues. (*Notes from the Botanical School of Trinity College Dublin*, Nr. 5, vol. 2, 1915.)
- [2] BARY, A. DE : Zur Kenntniss der Peronosporéen (*Bot. Ztg. Jhg.* 39, n° 33-39).
- [3] — : Untersuchungen über die Peronosporéen und Saprolegnien und die Grundlage eines natürlichen Systems der Pilze. (*Abhdlg. Senckenb. Naturf. Ges.*, Bd. 12, Hf. 2/4 - 1881.)
- [4] — : Die gegenwärtig herrschende Kartoffelkrankheit, ihre Ursache und ihre Verhütung (1861).

- [5] — : Über Schwärmsporen-Bildung bei einigen Pilzen. (*Ber. Verhandl. Naturf. Gesell., Freiburg i. B.*, 2, 1861).
- [6] — : Researches into the nature of the Potato fungus *Phytophthora infestans*. (*Journ. Bot.* vol. XIV, 1876.)
- [7] — : Remarques sur le développement de quelques champignons parasites. (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 4^e série, t. XX.)
- [8] — : Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. (*Dritte Reihe Erysiphae*, 23-52, 1871.)
- [10] BEAUVERIE, J. : Critique des bases cytologiques de la Théorie du Mycoplasme. (*Rev. Pathologie vég. et Entomologie agricole de France*, fasc. 3, 1926.)
- [11] — : Sur les bases cytologiques de la théorie du mycoplasma. (*C.R. de l'Acad. des Sciences, Paris*, 1926).
- [12] BELZUNG, E. : Recherches morphologiques et physiologiques sur l'amidon et les grains de chlorophylle. (*Thèse, Paris*, 1887.)
- [13] BERLESE, A.N. : Über die Befruchtung und Entwicklung der Oosphären bei den Peronosporaceen. (*Jahrb. f. wissenschaft. Bot.* 31. 1898).
- [14] BONDARZEW, V.N. et MONTEVERDE : *Phytophthora infestans* (Mont.) de By, auf Tomaten (*Bul. de malad. de plantes de l'U.R.S.S.*, nr. 1, 1926).
- [15] BROWN, W. : Studies in the physiology of parasitism. III. On the relation between « infection drop » and the underlying host tissue. (*Ann. Bot.* vol. 30, 1916.)
- [16] BRUJIN, H.L.G. DE : The saprophytic life of *Phytophthora* in the soil. (*Meded. Landbouwhooges.*, Wageningen, 244 : 37, 1922).
- [17] — : Oospores of *Phytophthora infestans*. Mont. de By. (*Rep. Internat. Conf. Phytopath. and Econ. Entomol. Holland.*, 1923.)
- [18] — : The overwintering of *Phytophthora infestans* (Mont.) de By. (*Phytopathology*, febr. 1926, vol. XVI, Nr. 2.)
- [19] — : Waarnemingen over de vatbaarheid van het loof van de aardappelplant voor de aardappelziekte. (« *Tijdschrift over Plantenziekten* », jaarg. 32, 1926.)
- [20] BUGNON, P. : Sur l'emploi du vert lumière en histologie végétale. (*Bul. Soc. Bot. de France*, tom. 66, 24. I. 1919.)
- [21] BUISMANN, C.J. : Root rots caused by Phycomycetes. (*Mededeel. van het Phytopath. Labor. « Willie Commelin Scholten »* XI, mei 1927, Baarn).
- [22] BUSGEN, M. : Über einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze. (*Bot. Zeity.*, 1893.)
- [23] — : Biologische Studien mit *Botrytis cinerea*. (*Flora*, 1918).
- [24] BUTTLER E.J. : Immunity and disease in plants. (*The agr. journ. India, Special India Science Congress* 1918.)
- [25] CALMETTE, A., NÈGRE, L., et BOQUET, A. : Manuel technique de microbiologie et sérologie. (Paris, 1926.)
- [26] CAPUS, M. J. : Les invasions de mildiou dans le vignoble français en 1913. (*Annales du Service des Epiphyties*, t. II, 1913.)
- [27] CARBONE, B. : L'immunità nelle piante. (*Riv. di Biolog.* vol. VIII, 1926.)
- [28] CHODAT, F. : Recherches expérimentales sur la mutation chez les champignons. (*Bul. Soc. Bot. de Genève*, 1926.)

- [29] CLINTON, G.P. : Downy mildew or blight, *Phytophthora infestans* (MONT. DE BY. of Potatoes. (II. Com. Agr. Exp. Sta. Ann. Rept. 1905, 1906.)
- [30] — : Artificial cultures of *Phytophthora* with special referenc to oospores (Ann. Rept. 1907, 1908, 1907.)
- [31] — : Oospores of potato blight, *Phytophthora infestans*. (Ann. Rept. 1909, 1910, 1911).
- [32] COLLINS, E.J. : The physiological aspect of the incidence of late blight (*Phytophthora infestans*) of potatoes. (Abs. in Proc. Linn. Soc., London. 137 th, session 1925.)
- [33] COOK, M.T.N. : The relation of parasitic fungi to the contents of the cells of the host plants. I. the toxicity of tanin. (Delawara Agr. Exp. Stat., Bul. 91, 1911.)
- [34] CORNU, M. : Note sur le *Phytophthora infestans* DE BARY et les spores dormantes qui l'accompagnent (*Pythium vexans* DE BARY et *Artotrogus hydnosporus* MONT). (Bul. Soc. Bot. de France, vol 28 (ser. 2, vol. 3), 1881.)
- [35] CORRENS, C.J. : Zur Kenntniss der inneren Struktur der vegetabilischen Zellmembran. (Pringsh. Jahrb. f. wissenschaft. Bot., XXIII. Bd. 1891.)
- [36] CZAPEK, F. : Biochemie der Pflanzen. (Bd. II, Berlin, 1905.)
- [37] — : Ueber also eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. (Jena, 1911).
- [38] DANGEARD, P.-A. : Théorie de la sexualité. (Botaniste, 6^e sér. 1899.)
- [39] — : Etude sur la structure de la cellule. (Botaniste, 8^e série 1902.)
- [40] — : Les ancêtres des champignons supérieurs. (Botaniste, 9^e série 1903.)
- [41] — : Notes sur les corpuscules métachromatiques des levures. (Bul. Soc. Mycol. France, t. XXXII, 1916.)
- [42] — : Sur la nature du chondriome et son rôle dans la cellule. (C.R.Ac. des Sciences de Paris, 1918.)
- [43] — : Vacuome, plastidome et sphérome dans *Selaginella Krausiana*. (C.R. Ac. Sc. Paris, 1920.)
- [44] — : La structure de la cellule végétale dans ses rapports avec la terminologie nouvelle des éléments cellulaires. (La Cellule, vol. XXXV, 1924.)
- [45] — : Sur la nature du sphérome dans la cellule végétale. (C.R.Ac.Sc. 1921.)
- [46] DANGEARD, P. : Sur la métachromatine et les composés tanniques des vacuoles. (C.R. Ac. Sc. Paris, 1920.)
- [47] — : Recherches de Biologie cellulaire (évolution du système vacuolaire chez les végétaux.) (Botaniste, 1923.)
- [48] — : Recherches sur l'appareil vacuolaire dans les végétaux. (Botaniste, XV, 1924.)
- [49] DELACROIX, G. : Sur la pourriture des Pommes de terre. (Bul. de la Soc. Mycolog. de France, t. XIX, 4^e fsc.)
- [50] — : Sur une altération des tubercules de pomme de terre. (Ann. de l'Inst. Nat. Agronom., 2^e ser., t. III, fasc. 1, 1904.)
- [51] — : Contribution à l'étude d'une maladie nouvelle de la Pomme de terre produite par le *Bacillus solanincola*, nov. sp. (C.R. Ac. Sc., Paris, 1901.)
- [52] DEVAUX, H. : Membrane de coagulation par simple contact de l'albumine avec l'eau ; application au protoplasme. (Extrait de Procès-Verbaux de la Soc. Lin. de Bordeaux, 1904.)

- [53] DUCOMET, V. : Recherches sur le développement de quelques champignons parasites à thalle subcuticulaire. (Paris, 1907.)
- [54] DUFRENOY, J. : Les maladies des arbres causées par des champignons du type *Phytophthora*. (Rev. Bot. appliquée et d'Agron. coloniale, vol. IV, n° 40, 1924.)
- [55] — : Le tabac blanc. (Ext. « Annales des Epiphyties », N° 1, 1927.)
- [56] — ET SZYMANEK, J. : Une maladie bactérienne du chou. (Rev. de Pathol. vég. et d'Entomol. agric., fasc. 4, 1926.)
- [57] ERIKSSON, J. : Die Pilzkrankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse. (Stuttgart, 1926.)
- [58] FISCHER, E. : Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine. (Berlin, 1906.)
- [59] FISCHER, H. : Über Inulin, sein Verhalten ausserhalb und innerhalb der Pflanze, nebst Bemerkungen über den Bau der geschichteten Stärkekörner. (Breslau, 1898.)
- [60] GAUMANN, E. : Über die Formen der *Peronospora parasitica*. (Pers.) Fries. (Thèse, Bern, 1927.)
- [61] GILMAN, J.C. : The relation of temperature to the infection of cabbage by *Fusarium conglutinans* Wollenweber. (Phytopathology, vol. 4, 1914.)
- [62] GRANT SMITH : The haustoria of the *Erysiphæ*. (Bot. Gaz., vol. XXIX, nr. 3, 1900.)
- [63] GRUSS, J. : Abhandlung über Enzymwirkung. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, XVII. Bd. Jhrg, 1907.)
- [64] GUILLERMOND, A. : Mitochondries et symbiotes. (C.R. des séances de la Soc. de Biologie, t. LXXXII, 1919.)
- [65] — : Sur les mitochondries des cellules végétales. (C.R. Ac. Sc., Paris, 1911.)
- [66] — : Recherches sur l'origine des plastes (leuco, chloro et chromoplastes) et sur le mode de formation de l'amidon. Contribution à l'étude des mitochondries chez les végétaux. (Arch. d'Anat. microsc., 1912.)
- [67] — : Sur la métachromatine et les composés phénoliques de la cellule végétale. (C.R. Ac. Sc. Paris, 1918.)
- [68] — : Sur les éléments figurés du cytoplasme chez les végétaux, chondriome, appareil vacuolaire et granulations lipoides. (Arch. Biol. 1921.)
- [69] — : Sur la dégénérescence graisseuse. (Rev. gén. de Bot., 1919.)
- [70] — : Nouvelles recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme de la cellule végétale. (Arch. d'Anat. microsc., t. XX, 1923.)
- [71] HABERLANDT, G. : Physiologische Pflanzenanatomie. 2. Aufl. (Leipzig, 1896.)
- [72] HALLIER, E. : Die Pestkrankheiten (Infektionskrankheiten) der Kulturgewächse. (Stuttgart, 1895.)
- [73] HARRISON, F.C. : A bacterial rot of the potato, caused by *Bacillus solanisoprus*. (Centralbl. f. Bacteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, 22 vol. 17, 1906.)
- [74] HAWKINS, L.A. : The disease of potatoes known as « leak ». (Journ. of Agric. Res., vol. VI, nr. 17, 1916.)
- [75] HECKE, L. : Untersuchungen über *Phytophthora infestans* de By., als Ursache der Kartoffelkrankheiten. (Journal für Landwirtschaft, vol. 46, nr. I, 1898.)
- [76] HOPKINS, E.E. : Hydrogen-ion concentration in its relation to wheat scab. (Amer. Jour. Bot., vol. 9, 1922.)

- [77] HURSH, C.R. : Sur la toxicité des milieux de cultures des champignons phytopathogènes vis-à-vis des plantes. (*Rev. Pathol. vég.* pp. 137-141, 1925.)
- [78] ISTWANFFY, Gy. : Über die Lebensfähigkeit der *Botrytis*, *Monilia* und *Coniothyrium* sporen. (*Zeitsch. f. Pflanzenkrankheiten*, Bd. 14, 1904.)
- [79] JAMES VERNON HARWEY : A study of the water molds and *Pythium* occurring in the soils of chapel Hill. (*Journal of Elisha Mitchell Scientific Soc.* vol. 41, r. 1-2, sept. 1925.)
- [80] JANCZEWSKI, E. DE : Mémoire sur les tubes criblés. (*Ann. Sc. nat.*, 1892.)
- [81] JENSEN, J.L. : Moyens de combattre et de détruire le *Peronospora* de la Pomme de terre. (*Mém. de la Soc. Nat. d'Agric. de France*, vol. 131, 1887.)
- [82] JONES, L.R.N.J., GIDDINGS AND B.T. LUTMANN : Investigation of the potato fungus *Phytophthora infestans*. (*U.S. Dept. of Agric. Bur. Pl. Ind. Bul.* 245, 1912.)
- [83] — : The diseases of the potato in relation to its development. (*Transactions of the Massachusetts Horticultural Society*, 1903.)
- [84] — : Disease resistance of potatoes. (*Bul.* 87, *Bur. of Plant Industry U. S. Dept. of Agric.*, 1905.)
- [85] — : Pectinase, the cytolytique enzym produced by *Bacillus carotovorus* and certain other soft-rot organisms. (*Technic. Bul.* 11, *New-York Agric. Exper. Stat.* 1909.)
- [86] — : Resting spores of the potato fungus (*Phytophthora infestans*). (*Science*, n.n., vol. 30, 1909.)
- [87] — AND GIDDINGS, N.J. : Studies of the potato fungus, *Phytophthora infestans*. (*Science*, vol. 29, 1909.)
- [88] — AND LUTMANN, B.F. : Further studies of *Phytophthora infestans*. (*Science*, vol. 31, nr. 802, 1910.)
- [89] KARRER, J.L. : Studies in the physiology of the fungi. XIII. The effect of hydrogen ion concentration upon the accumulation and activation of amylase produced by certain fungi. (*Ann. Missouri Bot. Gard.* vol. 8, 1921.)
- [90] KAUFFMANN, C.H. : A contribution of the physiology of the *Saprolegniaceae*. (*Ann. of Bot.*, vol. 22, 1908.)
- [91] KUCHI MIYAKE, M.A. : The fertilisation of *Pythium de Baryanum*. (*Ann. of Bot.* vol. XV, nr. LX, 1911.)
- [92] KIRCHNER, O. : Über die Beeinflussung der Assimilationsfähigkeit von Kartoffelpflanzen durch Bespritzung mit Kupfervitriol-Kalkbrühe. (*Zeitsch. f. Pflanzenkrankheiten* XVIII, 1908.)
- [93] KLEBS, G. : Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. (*Jahrb. f. wissenschaft. Botanik*, vol. 33, 1899, vol. 35, 1900.)
- [94] KLEBAHN, H. : Krankheiten des Flieders. (Berlin, 1909.)
- [95] KOSSOWICZ, A. : Die Zersetzung von Harnstoff, Harnsäure Hippursäure und Glykokol durch Schimmelpilze. (*Ztsch. für Gärungsphysiologie*, 1 : 10-12, 1912.)
- [96] KUFFERATH, H. : Sur la forme et la culture du *Bact. coli* et d'autres microbes sur gélose minéralisée. (*C.R. de séances de la Soc. de Biologie*, t. LXXXV, 1921.)
- [97] LAFFERTY, H.A. AND PETHYBRIDGE, Geo H. : On a *Phytophthora* parasite on apples which has both amphigynous and paragynous antheridic. (*The Scientific Proceedings of the Royal Dublin Soc.* vol. XVII (n. s.), 1922.)
- [98] LAURENT, E. : Recherches expérimentales sur les maladies des plantes. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1899.)

- [99] — : De l'action interne du sulfate de cuivre dans la résistance de la Pomme de terre au *Phytophthora infestans*. (C.R. Ac. Sc. Paris, 1902.)
- [100] LEONIAN, L.H. : Physiological studies on the genres *Phytophthora*. (Amer. Jour. of Bot. vol. XII, nr. 7, 1924.)
- [101] — : The effect of different hosts upon species of *Phytophthora*. (Phytopathology, nr. 1, 1927.)
- [102] LESTER-SMITH, W.C. : Some observations on the oospores of *Phytophthora* species. (Ann. of the Roy. Bot. Gard., Peradeniya, vol. X, part 3, 1927.)
- [103] LOHNIS, M.B. : Onderzoek over *Phytophthora inf.* (Mont.) de Bary op de aardappel-plant (Dissertation, Utrecht, 1922.)
- [104] LOHNIS, F. AND SMITH, N.R. : Life cycles of the bacteria. (Jour. Agr. Res. 6, 1916.)
- [105] LUTMANN, B.F. : Osmotic pressure in the potato plant et various stages of growth. (Amer. Journ. of Bot. vol. VI, nr. 5.)
- [106] MACÉ, E. : Traité pratique de bactériologie. (4^e édit., Paris, 1901.)
- [107] MAIGE, A. : Remarque au sujet de la formation et de la digestion de l'amidon dans les cellules végétales. (C.R. Acad. Scien., t. 177, 1923.)
- [108] — : Les différents stades de la condensation amylogène. (C.R. Acad. Sciences, t. 178, 1924.)
- [109] MANGENOT, G. : Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme des algues. (Arch. d'Anat. micro. Paris, 1922.)
- [110] MANGIN, L. : Sur la constitution de la membrane des végétaux. (C.R. Ac. Sc. Paris, 1888.)
- [111] — : Recherches anatomiques sur les Péronosporées. (Bul. de la Soc. d'Histoire Nat. d'Autun, t. 8, 1895.)
- [112] — : Sur les réactifs isolés de la cellulose. (Bul. Soc. Bot. de France, 1888.)
- [113] — : Observations sur la constitution de la membrane. (Atti de Congresso Botanico Internazionale, 1892.)
- [114] — : Observations sur la présence de la callose chez les Phanérogames. (Bul. Soc. Bot. de France, 1892.)
- [115] — : Recherches anatomiques sur la distribution des composés pectiques chez les végétaux. (Jour. de Botanique, 1893.)
- [116] MAQUENNE, L. et DEMOUSSY, E. : L'influence des matières minérales sur la germination. (Ann. de la Soc. Agron., 6 sér. 1921.)
- [117] MARTIUS, C.F.P. VON : Die Kartoffel-Epidemie der letzten Jahre oder die Stockfäule und Räude der Kartoffeln (München, 1842.)
- [118] MATRUCHOT, M.L. et M. MOLLIARD : Sur le *Phytophthora infestans*. (Ann. Mycol. I, 1903.)
- [119] MATSUMOTO, T. : Studie in the physiology of the fungi. XII. Physiological specialization in *Rhizoctonia Solani* KUHN. (Ann. Missouri, Bot. Gard. vol. 8, 1921.)
- [120] MAURIZIO, A. : Zur Entwicklungsgeschichte und Systematik der Saprolegnien. (« Flora oder Allg. Bot. » München, 1894.)
- [121] MELHUS, J.E. : Germination and Infection with the fungus of the Late Blight of Potato (*Phytophthora infestans*). (Agric. Exper. Stat. of the University of Wisconsin, Res. bul. 37, 1915.)

- [122] — : Experiments on spore germination and infection in certain species of *Oomycetes*. (*Wisc. Agric. Exper. Stat. Res. bul.* 15, 1911.)
- [123] — : Culturing of parasitic fungi on the living hosts. (*Phytopathology* 2, 1912.)
- [124] MILLARDET, A. : Observations nouvelles sur le développement et le traitement du mildiou. (*Jour. Agr. Prat.* 50, 1886.)
- [125] MINOUX, M. : Considérations générales sur la forme chez les bactéries. (*Labor. de microbiologie de la Facul. de Pharm. de Nancy*, Bergerac, 1927.)
- [126] MIYOSHI : Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden! (*Jahrb. f. wissenschaft. Bot.*, t. 28, p. 269, 1894.)
- [127] MONTAGNE, J.F.C. : Note sur la maladie qui ravage les Pommes de terre et caractères du *Botrytis infestans*. (*Soc. Philomatique de Paris, Procès-verbaux*, 1845.)
- [128] MORSE, BLACKLEDG : A bacterial disease of the stem and tuber of the Irish Potato. (*Bul.* 174, *Maine Agric. Exper. Stat.* 1909.)
- [129] MURPHY, P.A. : The morphology and Cytology of the sexual organs of *Phytophthora erythroseptica*, PETHYB., (*Ann. of Botany*, XXXII, 1918.)
- [130] — : The source of infection of potato. (*Scientific Proceed. Royal Dublin Soc.*, vol. XVI; N. S.)
- [131] — : The binomies of the conidia of *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY. (*Scien. Proc. Royal Dublin Soc.*, 1922.)
- [132] — AND MCKAY, R. : The development of blight in potatoes subsequent to digging. (*Journ. Dept. of Lands and Agric. Ireland*, 24, 1924.)
- [133] — AND MCKAY, R. : The downy mildew of onions (*Peronospora Schleideni*) with particular reference to the hibernation of the parasite. (*The Scien. Proceed. of the Royal Dublin Soc.* vol. XVIII; N. S.)
- [134] NAGELI, C.J. : Die Stärkekörner. (*Pflanzenphysiologische Untersuchungen*, 2. Hft. Zürich, 1858.)
- [135] — : Das Wachstum der Stärkekörner durch Intussusception. (*Bot. Zeitg.*, Nr. 40, Jahrg. 39, okt. 1881.)
- [136] NICOLLE, M. et MAGROU : Les maladies parasitaires des plantes. Paris, 1921.
- [137] NOBÉCOURT, P. : Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux. (Lyon, 1927.)
- [138] NORDHAUSEN, M. : Beiträge zur Biologie parasitärer Pilze. (*Jahrb. f. wissenschaft. Botanik*, Bd. 33, 1899.)
- [139] O'BRIEN, A.A. : Notes on the comparative resistance to high temperatur of the spores and mycelium of certain fungi. (*Bul. Torrey Bot. Club.* vol. 29, 1902.)
- [140] ORTON, W.A. : Environmental influences in the pathology of *Solanum tuberosum*. (*Jour. of the Washington Academy of Sciences*, vol. III, nr. 7, 1913.)
- [141] — C.R. : Disease resistance in varieties of potatoes. (*Prov. Ind. Acad. Sc.*, 1910, 1911.)
- [142] PETHYBRIDGE, G.H. : Investigations on potato diseases. (*Jour. of Dept. of Agric. and Techn. Instruc. for Ireland*, vol. XVI, nr. 4, 1916.)
- [143] — : Investigations on potato diseases. (*Jour. of Dept. of Agric. and Technic. Instruc. for Ireland*, vol. XII, nr. 1912.)
- [144] — : Investigations on potato diseases. (*The Scie. Proc. of the Royal Dublin Soc.*, vol. XV, nr. 3, 1915.)

- [145] — : Consideration and Experimentation on the supposed infection of the potato crop with the blight fungi (*Phytophthora infestans*) and the mean of mycelium derived directly from the plants tissues. (*The Sc. Proc. of the Royal Dublin Soc.*, vol. XIII, nr. 2, 1911.)
- [146] — : Further observation on *Phytophthora erythroseptica* PETHYBR. and on the disease produced by it in the potato plant. (*The Sc. Proc. of the Royal Dublin Soc.*, vol. XIV (N. S.), nr. 10, 1914.)
- [147] — : On the Rotting of Potato tubers by a new Species of *Phytophthora* having a method of sexual reproduction hitherto undescribed. (*The Sc. Proc. of the Royal Dublin Soc.*, vol. XIII (N. S.), nr. 35, 1913.)
- [148] — : Investigations on Potato diseases. (*Depart Jour.* vol. XIII, nr. 3, 1913.)
- [149] — AND MURPHY, P.A. : On pure cultures of *Phytophthora infestans* DE BARY and the development of oospores. (*The Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society*, vol. XIII, nr. 36, 1913.)
- [150] — AND LAFFERTY, H.A. : A disease of Tomato and other plants caused by a new species of *Phytophthora*. (*The scientific Proc. of Royal Dublin Soc.*, vol. XV (N. S.), nr. 35, 1919.)
- [151] PETRI, L. : Nuove osservazioni sulla biologia e sul parasitismo della *Blepharospora cambivora*. (*Ann. del Rich. Ist. sup. orest.*, naz. IX, 1924.)
- [152] FLOWRIGHT, C.B. : Jensen on the potato disease. (*Gardeners' Chronicle*, n. s. vol: 21, 1884.)
- [153] PORTIER, P. : Recherches sur les microorganismes symbiotiques dans la série animale. (*C.R. Ac. des Sc.*, 1917.)
- [154] — : Recherches physiologiques sur les champignons entomophytes. (Paris, 1911.)
- [155] PRILLIEUX, E. : Maladies des plantes agricoles. (Paris, 1895.)
- [156] — : Rapport sur l'emploi de la chaux et du sulfate de cuivre contre le mildew. (*Bull. Min. de l'Agric. France*, vol. 5, nr. 1, 1886.)
- [157] — : Expérience sur le traitement de la maladie de la Pomme de terre. (*C.R. Ac. des Sciences*, Paris, vol. 107, 1888.)
- [158] PRUNET, A. : Le Mildiou de la Pomme de terre. (*Rev. de Viticulture*, vol. 17 et 18, 1902.)
- [159] RAVAZ, L. et VERGE, G. : Sur le mode de contamination des feuilles de vigne par le *Plasmopara viticola*. (*C.R. Acad. Sc.*, 153, 1911.)
- [160] — : Influence de la température sur la germination des conidies du mildiou. (*Prog. Agr. et Vit.*, 29, 1912.)
- [161] REED, H.S. : Does *Phytophthora infestans* cause Tomato blight? (*Phytopathology* 2, 1912.)
- [162] REINHARDT UND SUSEKKOFF : Beiträge zur Stärkebildung in der Pflanze. (*Beiheft des bot. Centralblattes*, XVIII/1, 1905.)
- [163] RICE, M.A. : The haustoria of certain rusts and the relation between host and pathogene. (*Bul. of the Torrey Botanical Club*, 54, 1927.)
- [164] RICHTER, A. : Zur Frage über den Tod von Pflanzen infolge niedriger Temperatur. (Kälteresistans von *Aspergillus niger*.) (*Centralblatt Bakt. Abl.* II, 28, 1910.)

- [165] ROSEN : Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzelle. (*Beitr. zur Biol. der Pflanzen*, 6, 1893.)
- [166] ROSEBAUM, J. : Studies of the genus *Phytophthora*. (*Jour. Agr. Res.* 8, 1917.)
- [167] ROSENBERG, O. : Über die Befruchtung von *Plasmopara alpina*. (JOHANS.) (*Bihang till k. svenska vet. akad. Handlingar*. Bd. 28, Afd. II, nr. 10, Stockholm, 1903.)
- [168] ROUPPERT, K. : Beitrag zur Kenntniss der rhythmischen Zonenbildung und der pflanzlichen Membranen. (*Bul. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Let.*, déc. 1925.)
- [169] — : Sur la benzidine comme réactifs dans les plantes vivantes. (*C.R. Ac. des Sc.*, 22 fév. 1926.)
- [170] ROZE, E. : Histoire de la Pomme de terre. (Paris, 1898.)
- [171] — : Du *Phytophthora infestans* DE BARY et de la pourriture des Pommes de terre. (*Bul. Soc. Myc. de France*, vol. 14, 1898.)
- [172] RUHLAND, W. UND FABER F.C. VON : Zur biologie der *Plasmopara viticola*. (*Mitt. K. Biol. Anst. Land. und Forstw.* 8, 1909.)
- [173] SACCARDO, P.A. : Sylloge Fungorum. (Vol. VII, IX, XVI, 1888.)
- [174] SALMON, E.S. AND WARE, W.M. : Note on the occurrence of diseased shoots arising from potato tubers infected by *Phytophthora infestans*. (*Ann. of Appl. Biol.* 1926.)
- [175] SCHELLENBERG, H. : Versuche zur Bekämpfung des falschen Mehlluues. (*Landwirtsch. Jahrg. der Schweiz*, 1924.)
- [176] SCHIMPER, A.F. : Untersuchungen über das Wachstum der Stärkekörner. (*Bot. Ztg.*, Nr. 12, Jhrg. 39, 1881.)
- [177] SCHUTT, F. : Die Erklärung des centrifugalen Dickenwachstums der Membran. (*Bot. Zeitung*, nr. 16/17, 1900.)
- [178] — : Centrifugales Dickenwachstum der Membran und extramembranöses Plasma. (*Jahrb. f. wissenschaft. Bot.* Bd. XXXIII, Hft. 4, 1899.)
- [179] SCHWARTZ, M.B. : Intervingsverschijshen bij *Lichnera rosea* veroorzaakt door *Phytophthora spec.* (*Indische Culture, Teymania*, 1926.)
- [180] SELBY, A.D. : On the occurrence of *Phytophthora infestans* (MONT.) and *Plasmopara cubensis*. (B. and C.) (*Humph. in Ohio, Ohio Nat.* 7, 1907.)
- [181] SHERBAKOFF, C.D. : Buckeye rot of tomato fruit. (*Phytopathology*, VII, nr. 2, 1917.)
- [182] SMITH, ERVIN, F. : An introduction to bacterial diseases of plants. (Philadelphia and London, W. B. Saunders Company, 1920.)
- [183] — : Bacteria in relation to plant diseases (vol. 1, 2, 3, — Carnegie Institution of Washington, D. C., dec. 1905.)
- [184] SMITH, W.G. : The resting-spores of potato disease. (*Gardners' Chronicle*, n. s., vol. 4, nr. 80, 81, 82, 1875.)
- [185] — : The resting-spores of the potato fungus. (*Monthly Microscopical four.*, vol. 14, 1875.)
- [186] — : The potato fungus. Germination of the resting-spores. (*Grevillea*, vol. 5, 1876.)
- [187] SMORAWSKI, J. : Zur Entwicklungsgeschichte der *Phytophthora infestans* (MONTAGNE) DE BY. (*Inauguraldissertation, Landw. Jahrbücher*, vol. 19, 1890.)
- [188] SORAUER, P. : Handbuch der Pflanzenkrankheiten. (2, 1908, 3. Aufl.)



SZYMANEK : Contribution à l'étude du *Phytophthora infestans*.

- [189] — : Über die Prädisposition der Pflanzen für parasitäre Krankheiten. (*Jahresber. des Sonderausschusses für Pflanzenschutz*, nr. 12, 1902.)
- [190] SPERSCHNEIDER, J. : Dass das Faulen der Kartoffelknollen bei der sogenannten Kartoffelkrankheit durch die ausgestreuten und keimenden Sporen des Blattpilzes (*Peronospora devastatrix*) verursacht wird, durch Experimente bewiesen. (*Flora*, vol. 40, (n. s., vol. 15) 1857.)
- [191] STEVENS, L.F. : Gametogenesis and Fertilization in *Albugo*. (*Bot. Gaz.* vol. XXXII, 1901.)
- [192] — : The fertilization of *Albugo Bliti*. (*Am. Ass. Proc.*, 1899.)
- [193] — : The compound oosphers of *Albugo Bliti*. (*Bot. Gaz.*, vol XXVIII, 1899.)
- [194] STOWARD, F. : The effect of certain chemical substances on the vitality of the buds of potato tubers, and their disinfection. (*Proc. Roy. Soc., Victoria*, vol. XXIV (n. s.), 1912.)
- [195] STRASSBURGER, Ed. : Die pflanzliche Zellhaut. (*Pringsh. Jahrb.* XXXI, Bd., 1898).
- [196] STUART, X. : Disease resistant potatoes. (Bul. 115, 1905 et Bul. 122, 1906, *Vermont Agric. Exper. Stat.*)
- [197] SZYMANEK, J. : Quelques observations sur la structure du mycélium et des suçoirs du *Phytophthora infestans* dans le tubercule de Pomme de terre. (*C.R. Acad. Sc.* 7 mars 1927.)
- [198] THUNG, T.H. : Opmerkingen over *Peronospora parasitica* op kool. (*Tijdschr. over Plantenziekten*, Jahrg. 32, 1926.)
- [199] UPPAL : Relation of oxygen to spore germination in same species of the *Peronosporales*. (*Phytopathology*, vol. 16, nr. 1926.)
- [200] — : Toxicity of organic compound to the spores of *Phytophthora colocassiae* RAC. (*Journ. Agric. Res.* 1926.)
- [201] VORWINCKEL, O. : Die Anfälligkeit deutscher Kartoffelsorten gegenüber *Phytophthora infestans* (MONT.) DE BY, unter besonderer Berücksichtigung der Untersuchungsverfahren. (*Arb. Biol. Reichsanstalt für Land. und Forstwirtschaft*, XIV, 4, 1926.)
- [202] WAGER : On the fertilization of *Peronospora parasitica*. (*Ann. Bot.* 14, 1896.)
- [203] WALKER, LEVA B. AND ANDERSEN, E.N. : Relation of Glucogen to spore-ejection. (*Mycologia*, 1925.)
- [204] WARD, H.M. : Illustrations of the structure and life-history of *Phytophthora infestans*, the fungus causing the potato disease. (*Quarterly Journ. of Microscopical Science*, n. s., vol. 27, nr. 107, 1887.)
- [205] WATSON, T.L. : A chemical study of the Irish potato. (Bul. 56-55 *Virginia Agric. Exper. Stat.*, 1895.)
- [206] WEBB, R.W. : Studies in the physiology o fungi. Germination of the spores of certain fungi in relation to hydrogen-ions concentration. (*Ann. Missouri Bot. Gard.*, vol. 6, 1919.)
- [207] WILSON, G.W. : Studies in North-American *Peronosporales*. II *Phytophthorae* and *Physothecae*. (*Bul. of the Torrey Bot. Club*, vol. 34, nr. 8, 1907.)
- [208] WINOGRADSKY, S. : Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. (Leipzig, 1888.)
- [209] YOUNG, H.C. AND BUNETT, C.W. : Growth of some parasitic fungi in synthetic culture media. (*Amer. Jour. Bot.*, vol. 9, 1922.)
- [210] ZWEIFBAUM, J. : Sur utilisation du mélange « Nadi » et du bleu d'Indophénol formé *in vitro* en technique histologique. (*C.R. de la Soc. de Biol.*, 1923.)

- [211] — : Sur la coloration des graisses dans la cellule vivante. (*C.R. de la Soc. de Biol.* 1923.)
- [212] — ET MANGENOT : Application à l'étude histochimique des végétaux d'une méthode permettant la coloration vitale et postvitale des graisses dans la cellule animale. (*Soc. de Biol. de Lyon*, 1923.)
- [213] ZWIKKER, J.J.L. : L'action des enzymes amylolytiques sur les grains d'amidon et structure colloïdale de l'amidon. (*Requiel des Travaux Bot. Néerlandais*, 1921, vol. XVIII, liv. 1.)

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

- Figure 1. — Cellule palissadique d'une feuille indemne.
- Figure 2. — Cellule palissadique dégradée et cellule épidermique avec précipitations tannifères (fixation au Regaud, coloration à l'hématoxyline).
- Figure 3. — Cellule palissadique contenant un suçoir.
- Figure 4. — Stades d'altération nucléaire dans des cellules du mésenchyme d'une feuille parasitée.

PLANCHE II

- Figure 1. — Coupe dans un fruit parasité, le mycélium intracellulaire est muni de suçoirs. (fixation au Regaud, coloration à l'hématoxyline).
- Figure 2. — Coupe dans un bourgeon parasité, le mycélium est sans suçoirs et contient, ainsi qu'une cellule de l'hôte, des graisses.
- Figure 3. — Coupe dans le même bourgeon, le mycélium seul contient des graisses.
- Figure 4. — Coupe dans un stolon porteur d'un jeune tubercule expérimentalement infecté, le mycélium contient des graisses (fixation au Flemming faible).
- Figure 5. — Coupe dans le même stolon, le mycélium, contenant des graisses, transperce une cellule de l'hôte (coloration au Guéguen).

PLANCHE III

- Figure 1. — Coupe dans un tubercule mildioué et envahi par les bactéries.
- Figure 2. — Coupe dans un bourgeon infecté de tubercule de la variété « Bravo » : le mycélium renferme des graisses, les cellules voisines paraissent être intactes (fixation au Flemming faible, coloration à l'hématoxyline).
- Figure 3. — Coupe dans un stolon d'un tubercule de la variété « Bravo » expérimentalement infecté, le mycélium contient de nombreuses vacuoles et cytosomes, le noyau de la cellule de l'hôte est resté intact (fixation au Regaud, coloration par la méthode d'Alltmann-Kühl).
- Figure 4. — Coupe dans un fruit mildioué, le mycélium se trouve à l'intérieur de la cellule dont une partie est coupée en forme de calotte.
- Figure 5. — Coupe dans un fruit mildioué : le mycélium très ramifié présente des cloisons dans la partie vidée de protoplasme (coupe à la main colorée au bleu lactique).

PLANCHE IV

- Figures 1, 2, 3. — Oosphères avec leur anthéridie amphigyne.
- Figure 4. — Oosphère avec son anthéridie de même origine à tube fécondateur.
- Figure 5. — Oosphère sans anthéridie.
- Figure 6. — Oosphère avec deux anthéridies.
- Figure 7. — Oogones en grappe individualisée par une cloison.
- Figures 8, 9. — Oogones ayant à leur base un renflement correspondant à la future anthéridie (culture sur tubercule de pomme de terre).
- Figures 10, 11, 12. — Stades d'évolution de l'œuf; les ébauches en « α » correspondent à la future anthéridie.
- Figure 13. — Oosphère chargée de graisses avec une anthéridie pleine.
- Figure 14. — Oosphère chargée seulement de quelques gouttelettes de graisses et avec l'anthéridie vide.
- Figure 15. — Oosphère en germination.
- Figure 16. — Œufs trouvés dans une culture pure sur terre.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Physiologie. — MÉTABOLISME DES PROTIDES.

Géologie. — INFLUENCES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DANS LA FORMATION
DES SOLS.

Vu et approuvé :

Paris, le 14 Novembre 1927.

Le Doyen de la Faculté des Sciences :

C. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris :

S. CHARLÉTY.

